

Projecto de Investigação
Mestrado Integrado em Medicina



**Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre
de gestação:**

Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae*

Cátia Iracema Maia Morais

Orientadora: Professora Doutora Paula Ferreira

Co-orientadora: Doutora Filomena Taborda

Supervisora: Professora Doutora Margarida Lima

Porto, 2013

Anticorpos IgG anti-GAPDH
no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação:
Correlação com a colonização recto-vaginal
por *Streptococcus agalactiae*

Cátia Iracema Maia Morais

Preâmbulo

Este trabalho, apresentado para fins de obtenção do grau de Mestre em Medicina, integra um projeto de desenvolvido no âmbito da Disciplina de Iniciação à Investigação Científica (DIIC) do Curso de Mestrado Integrado em Medicina (MIM) do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto (ICBAS/UP) e do Centro Hospitalar do Porto (CHP) e consiste na proposta de projeto de investigação aprovada e em execussão.

A proposta de projeto foi elaborada durante o ano letivo 2011/2012 e o projeto foi executado durante os anos letivos 2011/2012 e 2012/2013, estando actualmente em curso no serviço de Imunologia do Instituto e Ciências Biomédicas Abel Salazar, sob a orientação da Professora Doutora Paula Ferreira, em colaboração Serviço de Obstetrícia do Centro Hospitalar do Porto, com apoio da Doutora Filomena Taborda, e ainda com a supervisão da Professora Doutora Margarida Lima, responsável pela DIIC.

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Paula Ferreira,

Por me ter contagiado com a sua energia desde o primeiro contacto com a Imunologia, pelo estímulo e pelo desafio, pela confiança depositada, pela compreensão e motivação, e acima de tudo pelo incrível lado humano.

À supervisora da DIIC, Professora Doutora Margarida Lima,

Pela dedicação ao ensino, pela disponibilidade, pelo exemplo de empenho e rigor que nos transmitiu, e por nos ter ajudado a crescer como aspirantes a investigadores.

À minha Co-Orientadora,

Ao Professor Doutor Pedro Madureira e a toda a equipa do laboratório de Imunologia do ICBAS, em particular ao aluno de Mestrado Pedro Melo, pela preciosa ajuda.

A todas as médicas obstetras que colaboraram, particularmente à Doutora Marcelina Carrilho que aceitou o desafio de se juntar a este barco.

À Dra. Lurdes Oliveira, pela disponibilidade em todo o percurso.

À técnica Encarnação, pelo sorriso e pelos conselhos.

E por último, mas sempre em primeiro,

À minha Mãe,

O teu Amor faz mexer o meu Motor.

ÍNDICE

PLANO CIENTÍFICO	11
Resumo	13
Introdução	15
Enquadramento teórico / Estado da arte	19
A bactéria	19
Patogénese	20
Doença no Recém Nascido	21
Dados epidemiológicos em Portugal	23
Doença no adulto	23
Profilaxia	24
Porquê uma vacina?	25
Vacinas Propostas	27
Problemas	29
Questão	29
Hipóteses de trabalho	29
Objectivos do estudo	30
Intervenientes	31
Instituições, Departamentos e Serviços	31
Equipa de Investigação	31
Metodologia	34
Critérios de revisão da literatura	34
Desenho do estudo	34
Plano de trabalho	35
Material e métodos	39
Análise de dados	40
Calendarização	41
Duração	41
Datas de início e conclusão	41
Cronograma global das actividades desenvolvidas	41
Cronograma de execução do projecto	42
Indicadores de produção	43
Comunicações orais e posters	43
Trabalhos escritos	43

Referências bibliográficas	45
QUESTÕES ÉTICAS	51
Informação dos participantes e consentimento informado	53
Informação dos participantes	53
Consentimento informado	53
Outras questões com implicações éticas	53
Riscos e benefícios	53
Confidencialidade e anonimização	53
Outros aspectos	53
PLANO FINANCEIRO	55
Orçamento	57
Financiamento	58
GLOSSÁRIO	59
Abreviaturas, siglas e acrónimos	60
ANEXOS	61
Folha de rosto do estudo de investigação	66
Pedidos de autorização institucional	69
Presidente do Conselho de Administração do CHP	69
Presidente da Comissão de Ética para a Saúde do CHP	69
Directora do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do CHP	69
Termos de responsabilidade	70
Aluno	70
Orientador do projecto	70
Supervisor do projecto / Responsável pela DIIC	70
Termos de autorização local	71
Directores de Serviço	71
Directores / Conselhos de Gestão de Departamento	71
Responsáveis por Unidades, Gabinetes ou Sectores	71
ANEXO 1 - Folheto informativo para os participantes	73
ANEXO 2 - Termo de consentimento informado	75
ANEXO 3 - Formulário de Requisição de Serologia	77

PLANO CIENTÍFICO

Resumo

Na década de 70, o *Streptococcus agalactiae*, também conhecido como GBS, foi reconhecido como a principal causa de infecção no recém-nascido. A administração profiláctica de antibióticos às grávidas colonizadas conduziu a um decréscimo significativo da incidência global de infecção neonatal por GBS e da mortalidade associada. Apesar disso, esta permanece actualmente uma causa importante de morbidade e mortalidade neonatal, para além de ser responsável por abortamentos espontâneos e nados mortos. Teoricamente, a vacinação contra este agente patogénico tem o maior potencial para erradicar a doença e prevenir a infecção, contornando o problema do uso de antibioterapia e da selecção de estirpes resistentes. No entanto, as vacinas mais estudadas, que têm como alvo o polissacárido capsular da bactéria (CPS), não conferem protecção para todos os serotipos. Estudos realizados em modelos animais mostraram que a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), produzida pelo GBS e altamente conservada, é um factor de virulência extracelular e que a vacinação materna com GAPDH recombinante conferiu protecção aos recém-nascidos contra a infecção por esta bactéria. Uma vacina usando a GAPDH como antígeno alvo é promissora para o combate à infecção neonatal por esta bactéria. No entanto, praticamente não existe informação sobre a presença de anticorpos anti-GAPDH em humanos, nem sobre o seu possível efeito protector para a colonização e infecção neonatal por GBS.

Com este trabalho pretende-se avaliar a presença de anticorpos anti-GBS em mulheres grávidas durante o terceiro trimestre de gestação e a sua relação com estado de colonização materna por esta bactéria.

O estudo será realizado no Serviço de Obstetrícia do Centro Hospitalar do Porto e no Laboratório de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Será pesquisada a colonização por *S. agalactiae*, através do exame microbiológico do exsudado recto-vaginal, a 300 mulheres durante o 3º trimestre de gestação, e será feita a pesquisa e titulação de anticorpos IgG anti-*Streptococcus agalactiae*, anti-CPS e anti-GAPDH no soro pelo método de ELISA. Finalmente, será avaliada a existência de uma possível correlação entre os resultados dos estudos microbiológicos e serológicos.

Introdução

Entre 10% e 30% das mulheres grávidas são portadoras assintomáticas de *Streptococcus agalactiae*, também conhecido como GBS (do inglês Group B *Streptococcus*), no trato vaginal (1, 2). Metade destas grávidas terá um filho colonizado e 1% destes apresentará infecção neonatal por GBS (3-5).

O GBS emergiu como causa importante de infecção invasiva, septicemia, pneumonia e meningite no recém-nascido na década de 70 permanecendo a principal causa de morbi-mortalidade neonatal, para além de ser responsável por abortamentos espontâneos e nados mortos (3, 4, 6, 7). Quando a infecção se manifesta nos primeiros 6 dias de vida designa-se doença precoce (EOD, do inglês *early-onset disease*). A EOD regista uma incidência global de 0,43 por 1000 nados vivos, e uma mortalidade de 12,1% que é 6 a 8 vezes superior no prematuro (5, 6, 8). Estes recém-nascidos apresentam-se frequentemente com pneumonia fulminante e sépsis (4, 5, 9, 10). A doença tardia (LOD, do inglês *late-onset disease*), que ocorre do 7º dia de vida em diante, afecta 0,24 em cada 1000 nados-vivos, dos quais 6,8% não sobrevive (7). Esta forma da doença manifesta-se mais comumente por bacteriemia e meningite e regista uma maior incidência de infecção focal que a EOD (11-13). A longo prazo, metade das crianças que manifestam meningite por GBS apresenta algum compromisso no neuro-desenvolvimento e 30% tem uma sequela neurológica grave (5, 6, 8, 14).

Também em Portugal o GBS é o principal responsável por sépsis neonatal precoce, atingindo 0,54 em 1000 nados-vivos e levando à morte 6,6% destes (12).

Para além do impacto que esta bactéria tem em idade precoce, pode ainda provocar infecção materna peri-parto e afectar adultos não gestantes, particularmente imunocomprometidos e idosos com patologia de base, registando nestes uma mortalidade significativa (6, 15).

A prevenção da infecção neonatal por GBS assenta actualmente na administração de antibioprolaxia intra-parto (IAP) às grávidas colonizadas, identificadas através de rastreio universal por exame microbiológico de exsudado rectovaginal colhido entre as 35 e 37 semanas de gestação (16). A IAP realiza-se após início do trabalho de parto ou rotura de membranas nas mulheres com rastreio positivo, em todas as mulheres que tiveram isolamento de GBS na urina ou filho infectado fruto de gestação anterior e ainda nas mulheres que, não tendo realizado rastreio, apresentem febre intraparto, risco de parto pré-termo (antes das 37.0

semanas), ou rotura de membranas com 18 ou mais horas de duração. São excluídas as mulheres submetidas a cesariana antes da rotura, independentemente do estado de colonização (16).

Após introdução da IAP houve um decréscimo significativo da incidência global de EOD (5, 16, 17), bem como na mortalidade entre casos (3, 4, 7). No entanto, a incidência da infecção continua a reflectir o fardo contínuo da doença (18, 19), sendo provável que o seu verdadeiro impacto esteja subestimado (20, 21) e, apesar da realização de IAP, não se registaram diminuições na incidência de LOD, na taxa de colonização materna nem na mortalidade no prematuro (5, 6, 8, 22). Para além disto, a profilaxia acarreta riscos e inconvenientes não desprezáveis, como a administração endovenosa de antibióticos a grávidas saudáveis, o custo elevado, a necessidade de repetir-se a cada gestação, o risco de anafilaxia, a impossibilidade de administração em mulheres que têm o parto em casa e, finalmente, o risco de selecção de estirpes de GBS resistentes (3, 16, 23, 24). Verificou-se nos últimos anos um aumento da incidência de infecções neonatais por bactérias gram-negativo que pode estar associado ao uso da IAP (25-29). É também importante considerar que rastreio e profilaxia não previnem todos os casos de doença precoce e excluem as crianças nascidas por cesariana com membranas intactas, que continuam em risco para a doença (12, 16).

A vacinação tem o maior potencial para erradicar a doença neonatal invasiva por GBS e para prevenir a infecção materna e do adulto não gestante, contornando o problema do uso de antibioterapia e selecção de estirpes resistentes (3, 24). Várias vacinas foram propostas contra o GBS, sendo a mais extensivamente estudada a que tem como alvo o polissacárido capsular da bactéria (30). No entanto, estas vacinas carecem de universalidade, ou seja, não conferem cobertura para todos os serotipos identificados nem para serotipos não tipáveis (24, 31-33). Foram também propostas vacinas contra antigénios proteicos, dos quais a C5a-peptidase, a Sip, a *laminin-binding protein* (Lmbp) e a *leucin-rich repeat protein* (LrrG) apresentam potencial de universalidade (34). As proteínas do *pili* do GBS, também propostas como vacina, não são universais devido à variabilidade apresentada, o que se poderia traduzir na selecção das estirpes não reconhecidas (35).

Para evitar a selecção de estirpes não reconhecidas pelo sistema imune, a vacina deverá ser dirigida para um constituinte conservado da bactéria associado aos seus mecanismos de virulência (35).

A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) é uma enzima chave da via glicolítica de produção de energia e está estruturalmente conservada nos 8 genomas de GBS publicados. Madureira e colaboradores demonstraram em ratinhos

que esta enzima actua como factor de virulência extracelular induzindo uma produção rápida de interleucina 10 (IL-10) pelo hospedeiro (36). Altas concentrações de IL-10 plasmática e no sangue de cordão foram associadas com elevada mortalidade e mau prognóstico em prematuros com suspeita de sépsis (37, 38), e é sabido que esta interleucina inibe a capacidade de eliminação de GBS intracelular pelos fagócitos através do compromisso da activação e quimiotaxia leucocitária, da produção de citocinas inflamatórias e da expressão de moléculas antimicrobianas em células fagocíticas (39-42). A vacinação materna com GAPDH recombinante (rGAPDH) conferiu protecção aos ratinhos recém-nascidos ao abolir o aumento precoce de IL-10 sérica, permitindo assim o recrutamento de neutrófilos para os tecidos infectados (35). Esta vacina constitui uma proposta promissora para o combate à infecção neonatal por GBS já que a proteína está associada ao metabolismo do GBS e é altamente conservada, sendo por isso improvável que sofra mutações (35). Achados da mesma equipa de investigadores sugerem que a vacina também será eficaz na prevenção de LOD (35).

Como a informação acerca da presença de anticorpos anti-GAPDH em humanos e do possível papel protector destes anticorpos para a colonização e infecção por GBS são inexistentes, com o presente trabalho pretende-se avaliar a presença destes anticorpos em grávidas durante o terceiro trimestre de gravidez e a sua relação com estado de colonização materna por GBS.

Enquadramento teórico / Estado da arte

O *Streptococcus agalactiae*, também referido como GBS (do inglês Group B *Streptococcus*) segundo a classificação de Lancefield, coloniza comensalmente os tractos gastrointestinal e genitourinário de indivíduos de ambos os sexos. Aproximadamente 10% a 30% das mulheres grávidas são portadoras assintomáticas desta bactéria no trato vaginal (1, 2).

No segundo terço do século XX, o GBS era um agente pouco comum de sépsis neonatal, mas na década de 70 emergiu como uma importante causa de infecção invasiva, septicemia, pneumonia e meningite no recém-nascido (RN) (3, 4).

A incidência antes do uso de antibióticos durante o parto era de 16/1000 nados vivos (43) dos quais metade morria da infecção (44). Desde então o GBS permanece a causa mais significativa de morbilidade e mortalidade neonatal, com uma incidência média global de 0,53 infectados por 1000 nados-vivos, com uma taxa de morte de 9,6% nos primeiros 89 dias de vida, (7). O GBS é ainda responsável por abortamentos espontâneos e nados mortos cuja incidência é difícil de quantificar (3, 6).

Embora a infecção por este microrganismo não se restrinja ao RN, é no período neonatal e até aos 90 dias de vida que apresenta maior incidência e gravidade (3). Os RN apresentam deficiências a nível da cascata do complemento e são incapazes de produzir títulos elevados de anticorpos em resposta a antígenos T-independentes, o que os torna particularmente susceptíveis a infecções por bactérias encapsuladas (45).

Apesar de a incidência de doença invasiva ser superior no prematuro (46), é no RN de termo (i.e. nascido depois das 37 semanas de gestação) que ocorrem 75 a 81% dos casos (12, 13).

A bactéria

Os *Streptococci* do grupo B são bactérias Gram-positivas com uma cápsula polissacarídica (CPS, do inglês *capsular polysaccharide*) e, com base nesta cápsula, são subdivididos em dez serotipos (Ia, Ib e II a IX) (4). A cápsula é considerada um dos principais factores de virulência da bactéria (9).

O serotipo III é responsável pela maioria das infecções após a primeira semana (47), e uma estirpe altamente virulenta deste serotipo, o clone ST-17, está associada às formas mais invasivas de doença e à maioria dos casos de meningite (80%) (11).

Patogénese

Cerca de 30% dos adultos estarão colonizados nos tractos gastrointestinal e génito-urinário, mantendo-se, no entanto, assintomáticos (2). O GBS é comensal do tracto gastrointestinal, local a partir do qual se dará a colonização vaginal (4, 5).

Embora o GBS seja capaz de aderir eficazmente a diversos tecidos humanos, a adesão máxima ocorre na acidez da mucosa vaginal (48), permitindo a colonização deste local e a transmissão vertical para o feto. Esta adesão é levada a cabo pela ligação de proteínas bacterianas a constituintes da matriz extracelular como a fibronectina, fibrinogénio e laminina (49).

Feita a adesão, a capacidade para penetrar as barreiras celulares que encontra é determinante para a patogenicidade do GBS. Ao nível das membranas placentárias, tem a capacidade de atravessá-las e diminuir a sua força elástica mesmo enquanto intactas, possivelmente através da produção de radicais de oxigénio e prostaglandina E2 (50). Este evento permitirá aspiração fetal do líquido amniótico contaminado e infecção deste *in utero*, e ainda a ocorrência de rotura prematura de membranas e parto prematuro em mulheres colonizadas (51).

O acesso aos alvéolos pulmonares após aspiração cria a porta de entrada para a ocorrência de pneumonia e bacteriemia. A rotura da barreira pulmonar sucede a invasão intracelular por endocitose (52).

A lesão do epitélio e endotélio pulmonar decorre principalmente da acção da β -hemolisina/citolisina (β -H/C) do GBS, que em baixas concentrações é responsável pela libertação de interleucina 8 (IL-8) e quimiotaxia de neutrófilos (53), enquanto em concentrações mais elevadas gera hemorragia, exsudação e entrada de neutrófilos para o espaço alveolar (51). O fosfolípido principal presente no surfactante pulmonar, dipalmitol-fosfatidilcolina (DPPC), neutraliza estes efeitos deletérios (53, 54), podendo a sua deficiência no prematuro justificar o maior risco.

Também a barreira hemato-encefálica é ultrapassada pelo GBS através de invasão celular e transcitose, especialmente pelo serotipo III (55) e citólise do endotélio mediada pela β -H/C (56).

Para a resposta imunológica contra este patógeno são essenciais as células fagocíticas, para as quais a β -H/C é directamente citolítica (51). Os RN estão particularmente vulneráveis à infecção pela deficiência qualitativa e quantitativa na função fagocítica, nas imunoglobulinas anti-GBS e nas vias do complemento (51).

Diversos factores permitem ao *Streptococcus agalactiae* ludibriar o sistema imune do hospedeiro, nomeadamente a presença na cápsula de um epítipo de ácido siálico ligado a galactose semelhante ao de células de mamíferos (57), um

componente da proteína de superfície C que liga a porção Fc de IgA sequestrando este componente imune das mucosas (58), a lise do componente C5a do complemento (59), a interferência com a opsonofagocitose conseguida cobrindo-se de fragmentos semelhantes à fibrina (60) e ainda a resistência à destruição no fagolisossoma (34). A gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) foi descrita como factor de virulência extracelular do GBS induzindo uma produção rápida de interleucina 10 (IL-10) pelo hospedeiro (36). Esta interleucina inibe a activação leucocitária, a produção de citocinas inflamatórias e a expressão de moléculas antimicrobianas em fagócitos, incapacitando-os na eliminação de GBS intracelular (39, 42). É ainda responsável pela diminuição na quimiotaxia de leucócitos para tecidos inflamados (39-41).

Verificou-se um número inesperadamente baixo de neutrófilos nos tecidos infectados por GBS no RN com EOD (61, 62), que se atribui comumente à parca quimiotaxia dos neutrófilos e imaturidade granulocitária (63, 64). Altas concentrações de IL-10 plasmática e no sangue de cordão de prematuros com suspeita de sépsis foram associadas com alta mortalidade e representam um factor precoce de mau prognóstico nesta população (37, 38).

Em relação à lesão provocada, contribuem factores activadores da resposta inflamatória. Os componentes da parede celular do GBS como o peptidoglicano são os principais responsáveis pela activação da cascata de citocinas do hospedeiro, nomeadamente TNF- α e IL-1 (51). A β -H/C foi associada com hipotensão sistémica e necrose hepática num modelo de coelho (65) e contribui para a cascata séptica pela indução da produção de óxido nítrico pelos macrófagos (66). Na meningite por GBS em ratinhos, a inflamação afecta o espaço subaracnóide, ventrículos, vasculatura e os próprios neurónios (51).

Doença no Recém Nascido

Doença Precoce (EOD)

O GBS é considerado o principal microrganismo responsável por doença invasiva nas primeiras 72h de vida do RN de termo (12, 18).

Denomina-se doença precoce (EOD, do inglês *early-onset disease*) a que se apresenta nos primeiros 6 dias de vida e nos quais ocorre a grande maioria dos casos de infecção por *S. agalactiae* (81% dos casos registados em Portugal (12)).

Dados recentes apontam para uma incidência média global de 0,43 por 1000 nados-vivos, dos quais 12,1% não sobrevive (7). Nos prematuros, a mortalidade é 6 a 8 vezes superior (5, 6, 8).

Entre 10 e 30% das mulheres grávidas estão colonizadas por GBS (1) e cerca de 50% destas terá um filho colonizado e 1% dos RN colonizados terá infecção (3-5). A colonização gastrointestinal e/ou vaginal da mãe é o factor de risco mais determinante para a ocorrência de EOD (3, 13, 67), verificando-se uma relação entre a densidade de GBS vaginal no momento do parto/rotura de membranas e o risco de colonização e doença grave do RN (8).

A transmissão vertical pode ocorrer imediatamente antes ou durante o parto (3). Embora a maioria dos casos se deva à ascensão do GBS após normal rotura das membranas, o microrganismo tem capacidade de penetrar nas membranas intactas e causar infecção *in utero* e abortamento com membranas intactas a meio da gestação (68, 69) e pode também contaminar o bebé durante a passagem no canal vaginal.

O risco de EOD é superior nos prematuros (nascidos com menos de 37 semanas de gestação) (13), provavelmente devido à falta de anticorpos maternos, cuja transferência se correlaciona inversamente com a idade gestacional (70).

Está ainda descrito maior risco de EOD nos bebés com baixo peso à nascença, rotura prolongada de membranas (≥ 18 horas), febre intraparto (13, 67), com baixo nível de anticorpos anti-capsulares e cujas mães apresentaram infecção por GBS em gestação prévia (13).

A infecção é evidente nas primeiras 24 horas em cerca de 90% dos casos de EOD (13, 46). As manifestações clínicas mais frequentes são pneumonia fulminante e sépsis (4, 5, 9, 10). Ocorre bacteriemia em 65% dos RN investigados, e pneumonia em 20% (46). O líquido cefalorraquidiano é positivo para GBS num terço dos casos (12), sendo este achado mais comum depois da primeira semana de vida.

Os RN com infecção precoce por *S. agalactiae* têm scores de Apgar aos 1, 5 e 10 minutos inferiores aos controlos saudáveis, permanecem mais tempo no hospital (com uma mediana tripla dos controlos do mesmo peso) e mais provavelmente necessitarão de oxigenoterapia, ventilação assistida e terapêutica com surfactante (13).

Doença Tardia (LOD)

Designa-se por doença tardia (LOD, do inglês *late-onset disease*) a que ocorre do 7º dia de vida em diante (3, 16), sendo rara após os 3 meses (4, 5). A incidência global de LOD situa-se nos 0,24 por 1000 nados-vivos, vitimando 6,8% dos afectados (7).

O serotipo III é responsável por 67% dos casos de LOD (47).

Os factores de risco são menos claros. Há uma associação independente com prematuridade e colonização materna por GBS (71) e, num estudo caso-controlo, a

LOD foi associada com o dobro do risco de ter nascido prematuro e com 2,5 vezes maior risco de ter nascido com menos de 2500g, comparativamente coma EOD (13). A raça negra foi apontada como um factor de risco acrescido mas os resultados não são consistentes (13, 71). A transmissão poderá ocorrer através da amamentação (72) ou decorrer de infecção nosocomial ou na comunidade (71, 73-77).

Os RN infectados apresentam-se geralmente com bacteriemia e um quarto apresenta meningite (11), com mais de metade das culturas do líquido cefalorraquidiano positivas (12). Verifica-se uma maior percentagem de casos de infecção focal que na forma precoce (13). A pneumonia (12), tal como celulite ou infecções osteoarticulares (78) são apresentações raras.

Tanto a EOD como a LOD apresentam uma morbilidade importante. Na primeira, pode verificar-se compromisso a longo prazo da visão e audição, e ainda atraso mental. Para além disto, metade dos RN com meningite por GBS apresenta algum compromisso no neuro-desenvolvimento num *follow-up* a 5 anos, e 30% deles têm uma sequela grave (5, 6, 8, 14).

Dados epidemiológicos em Portugal

O GBS é o isolado mais comum nos casos de sépsis neonatal precoce em Portugal (12). Um estudo realizado entre 2001 e 2005 estima uma incidência de infecção de 0,54/1000 nados-vivos, representando a forma precoce 81% dos casos, com um decréscimo de 40% nos últimos anos (12). Dos infectados, metade necessitou de internamento numa unidade de cuidados intensivos, e 20% de ventilação mecânica (12).

Há uma distribuição geográfica heterogénea na incidência da doença, com 0,9/1000 nados-vivos no Norte, 0,4/1000 no Centro e em Lisboa e Vale do Tejo, e 0,1 e 0,2/1000 no Algarve e nas Ilhas, reflectindo possivelmente uma distribuição também díspar da taxa de colonização (12).

A mortalidade registada em Portugal foi de 6,6%, não sendo observada diferença significativa entre as formas precoce e tardia (12). No entanto, em concordância com outros estudos, a doença é mais frequentemente letal nos prematuros (15,2% pré-termo vs. 4,6% termo) e com baixo peso à nascença (18% para bebés com <1500g) (12). Registou-se um decréscimo significativo na mortalidade, de 8,7% em 2002 para 2,3% em 2004 (12).

Doença no adulto

A infecção por GBS não está restrita ao RN, afectando a grávida durante a gestação. Enquanto a colonização do tracto genital é geralmente assintomática, as manifestações clínicas de infecção materna podem ser sérias, incluindo infecções do

tracto urinário, corioamnionite, endometrite, infecções da ferida cirúrgica, sépsis puerperal e, menos frequentemente, meningite, tromboflebite séptica ou outras complicações (6).

Além do impacto no RN e nas respectivas mães, a infecção por GBS afecta ainda adultos não gestantes, particularmente idosos com co-morbididades e imunocomprometidos, e a incidência nestes grupos não diminuiu (6). Mais de metade das mortes por GBS decorridas nos EUA ocorreu em idosos, que representam 40% dos infectados por este microrganismo (15). As apresentações mais comuns de infecção em adultos não gestantes são infecções da pele e tecidos moles e bacteriemia sem foco identificado, sendo que nos idosos se verificam ainda pneumonia e infecção urinária com alguma frequência (15).

Profilaxia

Como a maioria dos infectados apresenta doença precoce, estando alguns septicémicos à nascença (2) e metade sintomáticos nas primeiras 6 a 12 horas (12, 13), a margem para uma abordagem terapêutica com vista a reduzir a morbimortalidade desta infecção é ínfima, o que sustenta a necessidade de profilaxia.

Ensaio clínico realizados na década de 80 demonstraram que a administração de antibioterapia intravenosa durante o trabalho de parto a mulheres em risco de transmitir GBS aos seus filhos podia prevenir a EOD (10, 79, 80), levando à emissão das primeiras recomendações de antibioprophylaxis intraparto (IAP, do Inglês *intra-partum antibioprophylaxis*) em 1996 nos EUA (81, 82). Mas como seleccionar que mulheres fazem prevenção?

A estratégia baseada no risco resultou de múltiplos estudos que comprovaram a alta representatividade de alguns factores de risco clínicos em mães de RN infectados. No entanto, esta estratégia revelou-se pouco eficaz. Num estudo inglês, 35% das mães dos RN com doença precoce não apresentou qualquer factor de risco (13) e, em Portugal, um método de profilaxia baseado na presença de factores de risco deixaria por tratar 78% dos RN de termo que se apresentaram com doença precoce entre 2001 e 2005 (12).

A cultura de exsudado rectovaginal colhido entre as 35 e 37 semanas é o método de diagnóstico de colonização utilizado no rastreio universal, proposto pelo CDC (do Inglês *Centers for Disease Control and Prevention*) nas *guidelines* revistas de 2002 (83). As taxas de precisão para o terço distal da vagina são de 80,4%, enquanto a zaragatoa rectal é correcta em apenas 43,5% dos casos. Como a dupla colheita aumenta o nº de diagnósticos, é proposto o uso de 2 zaragatoas, uma em cada local, ou a mesma zaragatoa, primeiro na vagina e depois no recto (84).

O CDC conduziu um estudo coorte retrospectivo com o intuito de avaliar qual a melhor estratégia e os resultados demonstraram que as mulheres sujeitas a rastreio tinham menos de metade do risco de ter um filho infectado quando comparadas as avaliadas pela presença de um factor de risco (OR 0,46) (85), resultado que suportou a decisão de adoptar o rastreio universal nos EUA.

Um problema que se mantinha era o das mulheres que se apresentam em trabalho de parto sem resultado de cultura de GBS. No sentido de resolvê-lo foi desenvolvido um teste rápido de *S. agalactiae* por *real-time polymerase chain reaction* (PCR) (86). No entanto, esta tecnologia é recente e o seu custo faz com que ainda não esteja implementada na maioria dos cuidados de saúde materna.

Assim, actualmente a IAP realiza-se após início do trabalho de parto ou rotura de membranas nas mulheres com rastreio rectovaginal de GBS positivo às 35-37 semanas de gestação, com excepção das que realizarem cesariana antes da rotura. Se a cultura não estiver disponível, são alvo de profilaxia as mulheres com febre intraparto, risco de parto pré-termo (antes das 37.0 semanas), ou rotura de membranas com 18 ou mais horas de duração (16).

As mulheres em que se isolou GBS na urina durante a gestação ou que tiveram anteriormente um filho infectado realizam IAP, sem necessidade de efectuar rastreio (16).

O esquema administrado é de 5 milhões de unidades de penicilina G endovenosa, seguidas de 2,5 a 3 milhões a cada 4 horas até ao parto (alternativamente ampicilina 2 g endovenosa seguidas de 1 g a cada 4 horas). Nas mulheres alérgicas à penicilina, deve avaliar-se o risco de anafilaxia pela história prévia e, consoante essa avaliação, são administrados cefazolina nas de baixo risco e clindamicina ou vancomicina nas de alto (16).

A incidência global pós IAP oscila entre os 0,17 por mil nados-vivos na Índia (87) e os 3 por mil na África Subsaariana (88). Houve um decréscimo significativo que nos EUA foi de 1,7 por mil em 1993 para menos de 0,4 por mil nados-vivos em 2008 (5, 16) e em Espanha de 2,4 para 0,45 por mil, entre 1996 e 2008 (17). A mortalidade entre casos também desceu incrivelmente, dos 70-80% na EOD e 20-30% na LOD (3, 4) para 12,1% e 6,8% respectivamente (7).

Porquê uma vacina?

Na era da IAP, a taxa de infecção precoce diminuiu mas continua a reflectir o fardo contínuo da doença (18), tendo estabilizado nos EUA em 2004 (19). Para além disto, apesar da diminuição significativa, é provável que a incidência baseada no isolamento da bactéria em locais estéreis subestime o seu verdadeiro impacto, já que

as hemoculturas dos RN com pneumonia por *S. agalactiae* são frequentemente negativas e a própria realização de antibioterapia intraparto na grávida pode comprometer o crescimento bacteriano nos meios de cultura (20, 21). Acresce aos anteriores o facto de a mortalidade no prematuro se manter muito elevada (5, 8).

Particularmente em relação à IAP, ela tem como inconvenientes a administração de fármacos na gravidez, a administração endovenosa de antibióticos a grávidas saudáveis, o custo elevado e a necessidade de repetir-se a cada gestação, além de acarretar o risco de reacção anafiláctica (3, 5) e não ser possível administrá-la em mulheres que têm o parto em casa.

A pressão selectiva exercida pela antibioterapia pode levar ao desenvolvimento de estirpes de GBS resistentes (24), existindo registos de resistência aos macrólidos e clindamicina em torno dos 20-30% (16, 23). Acompanhando o decréscimo na infecção por GBS, verificou-se um aumento da incidência de infecções neonatais por bactérias gram-negativo, nomeadamente por estirpes de *Escherichia coli* resistentes à ampicilina e outras bactérias antibiorresistentes, o que pode estar associado ao uso da IAP (25-29).

É também importante considerar que rastreio e profilaxia não previnem todos os casos de doença precoce. No coorte português de Neto *et al*, mais de 10% dos RN com doença precoce eram filhos de mães que tinham recebido pelo menos uma dose de antibioterapia (12). Crianças com doença precoce nascidas por cesariana com membranas intactas continuam em risco para a doença. No entanto, de acordo com as *guidelines* actuais, as respectivas mães não recebem profilaxia, mesmo que estejam colonizadas (12, 16).

A IAP não teve impacto na LOD, cuja incidência se tem mantido estável nos últimos 20 anos (5, 6, 8, 22). Na Islândia, um estudo retrospectivo determinou um aumento sustentado da incidência de doença tardia desde 1975 (22).

Independentemente da estratégia de prevenção, a taxa de colonização entre grávidas tem-se mantido estável e não se verificaram alterações na distribuição dos serotipos (8).

A vacinação tem o maior potencial para erradicar a doença invasiva por GBS, tanto no RN como nos meses seguintes de vida, para prevenir a infecção materna (3) e do adulto não gestante, contornando ainda o problema do uso de antibioterapia e selecção de estirpes resistentes (24).

Vacinas Propostas

O primeiro alvo estudado no desenvolvimento de uma vacina contra o GBS foi o CPS, tendo sido desenvolvidas vacinas conjugadas com toxóide tetânico funcionalmente activas para nove serotipos identificados (30).

No entanto, estas vacinas falham no sentido de não serem universais, ou seja, não conferem cobertura para todos os serotipos identificados, sendo necessária a combinação de pelo menos 5 serotipos para abranger 95% da população Europeia e Norte-Americana, que para mais já não terá a mesma abrangência noutras regiões como o Japão (24). Mais ainda, estas vacinas não conferem protecção para serotipos não tipáveis, que têm vindo a ser reportados com maior frequência (31-33), e são mais caras do que as alternativas proteicas pela necessidade de conjugação com uma proteína transportadora (89).

Foram também propostas vacinas contra antígenos proteicos, dos quais a C5a-peptidase, a Sip, a *laminin-binding protein* (Lmbp) e a *leucin-rich repeat protein* (LrrG) apresentam potencial universalidade (34). As proteínas do *pili* do GBS foram propostas como alvo para o desenvolvimento de uma vacina (90). No entanto, devido à variabilidade apresentada, seriam necessários 3 antígenos diferentes para se obter protecção contra 94% das estirpes contemporâneas, o que para mais se poderia traduzir na selecção das estirpes não reconhecidas (35).

A vacina ideal deverá ser dirigida para um constituinte conservado da bactéria e associado à sua virulência, de forma a evitar a selecção de estirpes não reconhecidas pelo sistema imune (35).

Recentemente foi descrito que a vacinação materna com GAPDH recombinante (rGAPDH) confere protecção aos ratinhos RN ao eliminar o aumento precoce de IL-10 sérico após inoculação bacteriana e permitindo assim o recrutamento de neutrófilos para os tecidos infectados (35). Os anticorpos produzidos no ratinho e no coelho contra a GAPDH bacteriana não reconheceram a GAPDH humana. A ausência de colonização no cérebro dos ratinhos provenientes de mães vacinadas com a rGAPDH, sugere que a vacina também será eficaz na prevenção de LOD (35). Uma vez que esta proteína está associada ao metabolismo do GBS e é altamente conservada é muito improvável que sofra mutações, sendo por isso mesmo uma vacina muito promissora para as infecções neonatais com a bactéria (35).

Apesar dos resultados promissores obtidos com o modelo animal de vacinação materna com a rGAPDH, a informação acerca da presença de anticorpos anti-GAPDH em humanos é praticamente inexistente, bem como acerca de um possível papel protector destes para a colonização e infecção por GBS. Com este trabalho pretende-

se quantificar a presença destes anticorpos em grávidas durante o terceiro trimestre de gravidez e determinar a existência de uma relação entre a presença ou ausência destes e o estado de colonização materna por GBS.

Problemas

Apesar da antibioprolaxia intraparto (IAP, do inglês *intra-partum antibiotic prophylaxis*), as infecções neonatais causadas por *Streptococcus agalactiae* estão associadas a uma elevada taxa de morbilidade. Além disso, a incidência da doença de início tardio (LOD, do inglês *late-onset disease*) causada por *S. agalactiae* mantém-se inalterada apesar da implementação da IAP.

Foram já identificados dez serotipos diferentes de *S. agalactiae*. No entanto, apesar dos esforços, ainda não foi desenvolvida uma vacina eficaz na prevenção da infecção neonatal por esta bactéria. Algumas vacinas testadas em animais de laboratório baseiam-se nos polissacáridos da cápsula bacteriana (CPS, do inglês *capsular polysaccharides*) e, portanto, são serotipo-específicas; outras, que usam proteínas do *pili*, induziram a selecção de estirpes resistentes.

Estudos recentes, usando o ratinho como modelo animal, demonstraram que a vacinação materna com a enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH, do inglês *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*) do *S. agalactiae* é eficaz na protecção neonatal contra esta bactéria. A GAPDH é uma proteína altamente conservada em todos os serotipos de *S. agalactiae* o que favorece o seu uso como uma vacina universal contra este tipo de infecções. No entanto, não existem estudos que relacionem a presença de anticorpos IgG anti-GAPDH no soro materno humano com a inibição da colonização recto-vaginal ou com a protecção do recém-nascido contra infecções por *S. agalactiae*.

Questão

A presença de imunoglobulinas (Ig) IgG anti-GAPDH no soro materno está associada a um menor risco de colonização por *Streptococcus agalactiae*?

Hipóteses de trabalho

A presença de imunoglobulinas IgG anti-GAPDH no soro materno está associada a um menor risco de colonização recto-vaginal por *S. agalactiae*.

Objectivos do estudo

1. Determinação da prevalência da colonização por *S. agalactiae* na população em estudo, através do exame microbiológico do exsudado recto-vaginal.
2. Estudo serológico materno no 3º trimestre:
 - a. Doseamento de anticorpos IgG anti-*Streptococcus agalactiae*
 - b. Doseamento de anticorpos IgG anti-CPS
 - c. Doseamento de anticorpos IgG anti-GAPDH
3. Correlação entre os resultados dos estudos microbiológicos e serológicos.

Intervenientes

Instituições, Departamentos e Serviços

- Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) da Universidade do Porto (UP), (ICBAS/UP).
 - Departamento de Imuno-Fisiologia e Farmacologia (DIFF).
 - Laboratório de Imunologia (LI).
- Centro Hospitalar do Porto (CHP).
 - Centro de Responsabilidade Materno-Infantil do Norte (CMIN) (Maternidade Júlio Dinis, MJD)
 - Departamento da Mulher (DM).
 - Serviço de Obstetrícia (SO).

Equipa de Investigação

Constituição

Aluno

- Cátia Morais: aluna da Disciplina de Iniciação à Investigação Clínica (DIIC) do Curso de Mestrado Integrado em Medicina (MIM) do ICBAS.

Orientadores do projecto

- Paula Ferreira: professora associada do ICBAS, LI do ICBAS (Orientadora).
- Filomena Taborda: médica, obstetra, professora auxiliar, assistente hospitalar graduada, SO do CHP (Co-orientador).

Supervisor da DIIC

- Margarida Lima: médica, imunohemoterapeuta, assistente hospitalar graduada, Serviço de Hematologia Clínica (SHC) do HSA/CHP; responsável pelo Laboratório de Citometria (LC) do SHC; professora auxiliar convidada do ICBAS; regente da DIIC.

Outros investigadores

- Pedro Madureira: Bolseiro Pós Doutoramento, LI do ICBAS.

Colaboradores

Médicos

- Fernanda Pacheco: médica obstetra, assistente hospitalar graduada, Serviço de Obstetrícia, MJD.
- Graça Buchner: médica obstetra, assistente hospitalar, Serviço de Obstetrícia, MJD.
- Madalena Moreira: médica obstetra, assistente hospitalar graduada, Serviço de Obstetrícia, MJD.

Técnicos

- Lurdes Oliveira, técnica de diagnóstico e terapêutica (TDT) do LC do SHC do HSA/CHP.

Funções e responsabilidades

- A concepção e elaboração da proposta e a execução do projecto são da responsabilidade da aluna;
- Os orientadores acompanharão a aluna na elaboração de proposta, na execução do projecto e na análise e interpretação dos resultados;
- A regente da DIIC supervisionará todas as fases do projecto, desde a sua concepção até à apresentação dos resultados, passando pela sua execução e análise/interpretação dos dados;
- Os restantes investigadores colaborarão em aspectos específicos do projecto, conforme especificado adiante.

Tempo dedicado ao projecto

Nome e apelido	Função	Pessoas * Mês
Cátia Morais	Aluno	2,0
Paula Ferreira	Orientador	0,5
Filomena Taborda	Co-orientador	0,5
Margarida Lima	Supervisor	0,5
Pedro Madureira	Investigador	0,2
Fernanda Pacheco	Médico colaborador	0,4
Graça Buchner	Médico colaborador	0,4
Madalena Moreira	Médico colaborador	0,4
Lurdes Oliveira	Técnico colaborador	0,4
Total		5,3

Condições e motivações para a realização do estudo

Capacidades instaladas e recursos disponíveis

Estão garantidos os recursos humanos e materiais necessários para o projecto. Os equipamentos necessários para as análises de investigação (estudos serológicos) estão disponíveis no LI do ICBAS e os custos dos reagentes e materiais consumíveis são suportados pela verba disponibilizada pelo ICBAS para a DIIC. Os equipamentos necessários para as análises de rotina estão disponíveis no LM do HSA/CHP.

A informação ao doente, obtenção de consentimento informado e preenchimento das requisições de estudo serão da responsabilidade das médicas obstetras (co-orientadora e colaboradoras), no SO.

As colheitas de sangue periférico das grávidas, para estudo serológico, serão realizadas pelas técnicas do centro de colheitas do CRMI/CHP. As amostras serão enviadas para o LC do SHC do HSA/CHP, e este realizará a separação do soro e congelamento das amostras, respectiva anonimização e envio para o LI do ICBAS, onde serão feitos os estudos serológicos (análises de investigação). Estas serão realizadas pela aluna com o apoio da orientadora e do investigador.

As colheitas de exsudados recto-vaginais para estudo microbiológico serão efectuadas no âmbito da consulta, pelas médicas obstetras envolvidas no projecto. O

estudo microbiológico (pesquisa de GBS) faz parte das análises de rotina e é realizado no LM do CHP.

O tratamento dos dados será realizado pela aluna com recurso ao programa SPSS, versão 18. A análise e interpretação dos resultados serão efectuadas com a colaboração das orientadoras.

Mérito da equipa de investigação

Paula Ferreira e Pedro Madureira: A equipa tem uma grande experiência na área da Imunologia, em particular no contexto da infecção por GBS (estudo da infecção em modelos animais), tendo proposto uma vacina contra a GAPDH do GBS (35, 36, 91, 92).

Filomena Taborda: Médica experiente na área da Obstetrícia capaz de garantir as boas práticas clínicas na condução do estudo.

Motivações pessoais para a realização do estudo

Permitirá uma introdução à metodologia de investigação clínica e uma oportunidade de aprender a conceber e executar um projecto de investigação, uma vez que considero fortemente a possibilidade de vir a realizar investigação no futuro. Em particular motivam-me o gosto pela Imunologia e a possibilidade de contactar com a execução de técnicas laboratoriais.

Metodologia

CrITÉRIOS de revisão da literatura

A revisão da literatura foi feita através de recursos electrónicos (via *B-on* e *PubMed*, e em casos pontuais, através do motor de busca *Google Scholar*). Na pesquisa foram usadas as seguintes palavras-chave: *GBS*, *Streptococcus agalactiae*, *Group B Streptococcus*, *vaccine* e *neonatal*. Foram seleccionados apenas os artigos de língua inglesa, originais ou de revisão. Foram ainda incluídos artigos facultados pela orientadora e 2 artigos publicados pela equipa de investigação.

Desenho do estudo

Tipo de estudo

Estudo de investigação clínica, nacional e institucional, de carácter analítico, observacional e transversal, de tipo caso-controlo e de âmbito clínico e laboratorial.

Universo, população e amostra

Universo:

Mulheres adultas grávidas.

População:

Mulheres adultas grávidas seguidas na Consulta de Obstetrícia do CRMI/CHP.

Amostra:

Método de amostragem: não aleatório, por conveniência (consecutivo).

Tamanho pretendido: 300 grávidas (com base em estudo prévio, efectuado entre 2005 e 2008, em que a incidência de grávidas colonizadas foi de 12,28%, estima-se que uma amostra de 300 grávidas incluía 36-37 grávidas colonizadas) (93).

Nota: No caso de não ser possível atingir o número pretendido para a amostra na Consulta de Obstetrícia do CHP, poderemos ter que solicitar a colaboração de outros hospitais do Norte.

Seleccção dos participantes

Serão seleccionadas as grávidas observadas durante o 3º trimestre (32-35 semanas de gestação) na Consulta de Obstetrícia no CMIN/CHP, pelas médicas obstetras Fernanda Pacheco, Filomena Taborda, Graça Buchner e Madalena Moreira, às quartas-feiras de manhã, entre os meses de Maio e Outubro, até atingir o tamanho pretendido para a amostra (n=300).

Critérios de elegibilidade

Critérios de inclusão

Ter idade superior a 18 anos
Estar grávida.
Ser seguida na consulta de obstetrícia do CMIN/CHP pela co-orientadora ou por uma das médicas obstetras colaboradoras.
Aceitar participar no estudo de forma livre e esclarecida e assinar o termo de consentimento informado.
Ter consulta durante o 3º trimestre de gestação, agendada entre os meses de Maio e Outubro de 2012, às 4^{as} feiras.

Critérios de exclusão

Ter imunodeficiência congénita ou adquirida.
Ter tido infecção e/ou ter feito antibioterapia durante o último mês.
Ter feito tratamento com corticosteróides ou outros imunossuppressores durante o último mês.

Plano de trabalho

Tarefas associadas ao projecto

Lista de tarefas

Durante a execução do projecto estão previstas as seguintes tarefas:

Nº da tarefa	Designação da tarefa	Data de início	Data de conclusão
1	Informação ao doente e assinatura do termo consentimento informado.	01/05/2012	Quando n=300 ou a 31/10/2012
2	Requisição para estudo serológico e preenchimento do formulário de dados.		
3	Colheita de exsudados recto-vaginais e requisição de estudo microbiológico (rotina)		
4	Colheita de amostras de sangue periférico para estudo serológico.		
5	Recepção das amostras de sangue e requisições, separação do soro, anonimização e criopreservação		
6	Realização do estudo serológico (investigação)	01/11/2012	31/11/2012
7	Recolha dos resultados dos estudos microbiológicos		
8	Análise e tratamento dos dados e interpretação dos resultados.	01/12/2012	31/01/2012

Descrição das tarefas

Tarefa 1: Informação ao doente e assinatura do consentimento informado.	
Duração:	6 meses
Data prevista para o início:	1/Maio/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Outubro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	SO (CMIN/CHP, MJD) (Consulta de Obstetrícia)

Descrição:	Explicar às grávidas os objectivos do estudo, entregando o folheto informativo (Anexo 1) e solicitar a sua participação, esclarecendo possíveis dúvidas e solicitando a assinatura do termo de consentimento informado (Anexo 2), caso desejem participar. Arquivar o consentimento informado em pasta própria que ficará nas instalações da consulta.
Investigadores envolvidos:	Filomena Taborda, Fernanda Pacheco, Graça Buchner e Madalena Moreira
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Explicar o estudo e solicitar a participação. Solicitar assinatura de consentimento informado.

Tarefa 2: Requisição para estudo serológico e preenchimento do formulário de dados.	
Duração:	6 meses
Data prevista para o início:	1/Maio/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Outubro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	SO (CMIN/CHP, MJD) (Consulta de Obstetrícia)
Descrição:	Preencher a requisição para estudo serológico (Anexo 3), fornecendo a informação solicitada. Enviar a grávida ao Laboratório para fazer a colheita de sangue, com a respectiva requisição (Anexo 3).
Investigadores envolvidos:	Filomena Taborda, Fernanda Pacheco, Graça Buchner e Madalena Moreira
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Preencher a requisição de estudo serológico, com a informação solicitada.

Tarefa 3: Colheita de exsudados recto-vaginais e requisição de estudo microbiológico (análise de rotina)	
Duração:	6 meses
Data prevista para o início:	1/Maio/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Outubro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	SO (CMIN/CHP, MJD) (Consulta de Obstetrícia) SM (HSA/CHP): Rotina
Descrição:	Colheita de exsudados recto-vaginais e pedido do respectivo estudo microbiológico, de acordo com o procedimento de rotina em vigor no CHP.
Investigadores envolvidos:	Filomena Taborda, Fernanda Pacheco, Graça Buchner e Madalena Moreira, na colheita.
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Fazer a colheita dos exsudados e as respectivas requisições para estudo microbiológico.

Tarefa 4: Colheita das amostras de sangue periférico para estudo serológico	
Duração:	6 meses
Data prevista para o início:	1/Maio/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Outubro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	Laboratório de análises (MJD/CHP)
Descrição:	Recepção da requisição de estudo serológico. Colheita de 9 ml de sangue venoso periférico para tubo sem anticoagulante, identificado. Envio das amostras e da respectiva requisição para o LC do SHC do CHP.
Investigadores envolvidos:	Técnicos do Laboratório que executam as colheitas.
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Colher as amostras de sangue. Enviar para o LC do SHC do CHP, com a respectiva requisição.

Tarefa 5: Recepção das amostras de sangue/requisições, separação do soro, anonimização e criopreservação	
Duração:	6 meses
Data prevista para o início:	1/Maio/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Outubro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	LC (HSA/CHP)
Descrição:	Receber as amostras de sangue e as respectivas requisições. <u>Amostras</u> : separar o soro por centrifugação; fraccionar o soro em amostras de 0,5 ml; anonimizar das amostras, atribuindo a cada amostra o nº que consta na respectiva requisição; congelar as amostras a -20°C até ao seu envio para o ICBAS; elaborar lista de correspondência entre nº da amostra e identificação do participante. <u>Requisições</u> : arquivar as requisições em pasta própria, que ficará no LC; arquivar a lista na mesma pasta; fornecer a informação que consta nas requisições à aluna, de forma anonimizada.
Investigadores envolvidos:	Técnicos do LC do SHC: Lurdes Oliveira. Médica responsável pelo LC: Margarida Lima,
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Lurdes Oliveira: Separar o soro, anonimizar e criopreservar amostras; arquivar as requisições; elaborar e arquivar lista de correspondência. Margarida Lima: Fornecer a informação que consta nas requisições à aluna, de forma anonimizada.

Tarefa 6: Realização do estudo serológico (análise de investigação)	
Duração:	1 mês
Data prevista para o início:	1/Novembro/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Novembro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	LI (ICBAS)
Descrição:	Pesquisa de anticorpos IgG anti-GBS, anti-CPS e anti-GAPDH no soro, pelo método de ELISA e respectiva titulação.
Investigadores envolvidos:	Cátia Morais, Paula Ferreira
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Receber as amostras de soro anonimizadas. Executar as técnicas de ELISA. Analisar os resultados.

Tarefa 7: Recolha dos resultados dos estudos microbiológicos	
Duração:	2 meses
Data prevista para o início:	1/Novembro/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Novembro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	SO (CMIN/CHP, MJD) (Consulta de Obstetrícia)
Descrição:	Consultar os resultados dos exames microbiológicos (SAM).
Investigadores envolvidos:	Filomena Taborda
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Consultar os resultados dos estudos microbiológicos e fornecê-los à aluna, anonimizados.

Tarefa 8: Análise e tratamento dos dados e interpretação dos resultados.	
Duração:	2 meses
Data prevista para o início:	1/Dezembro/2012
Data prevista para a conclusão:	31/Janeiro/2012
Instituições, Departamentos e Serviços:	LI (ICBAS) SO (CMIN/CHP, MJD)
Descrição:	Análise e tratamento dos dados com recurso ao programa SPSS versão 18.0
Investigadores envolvidos:	Cátia Morais, Paula Ferreira, Filomena Taborda.
Funções e responsabilidades dos investigadores:	Analisar/tratar os dados e interpretar os resultados.

Material e métodos

Instrumentos de recolha de dados

No estudo será recolhida a informação que consta na requisição de estudo serológico, enviada em anexo.

Procedimentos técnicos

A pesquisa de anticorpos IgG anti-GBS, anti-CPS e anti-GAPDH no soro será realizada pelo método de ELISA.

Equipamento e Reagentes

Serão utilizados os equipamentos disponíveis no LI do ICBAS/UP.

Tipo de equipamento	Marca	Modelo	Local
Leitor de placas de ELISA	Thermo	Multiskan Ex	LI/DIIF/ICBAS
Micropipeta Multicanal	HTL	Discovery Comfort Multicanal, 12 Canais, 20-200 µl Mod. DV12-200	
Micropipeta Monocanal	HTL	Discovery Comfort Monocanal Volume Variável 0,5~10 µL - DV-10	
Micropipeta Monocanal	HTL	Discovery Comfort Monocanal Volume Variável 2~20 µL - DV-20	
Micropipeta Monocanal	HTL	Discovery Comfort Monocanal Volume Variável 5~50 µL - DV-50	
Micropipeta Monocanal	HTL	Discovery Comfort Monocanal Volume Variável 10~100 µL - DV-100	

Reagentes

Finalidade do reagente	Descrição	Fabricante	Referência	Fornecedor
ELISA	Bovine Serum Albumin (BSA)	Sigma-Aldrich	A7906	Sigma-Aldrich
	Goat Anti-Human IgG-AP	Southern Biotech	2040-04	Reagente 5
	EDTA	Sigma-Aldrich	E5134-50G	Sigma-Aldrich
	Magnesium Chloride, Hexahydrate	Calbiochem	442615-500GM	Merck
	Sodium Chloride	Calbiochem	567440-500GM	Merck
	Sodium hydrogen	Merck	106323	Merck

	carbonate			
	4-Nitrophenyl phosphate disodium salt hexahydrate	Sigma-Aldrich	N9389-50TAB	Sigma-Aldrich
	Tris (hydroxymethyl) aminomethane	Merck	1083820100	Merck
	Tween-20	Sigma-Aldrich	P1379	Sigma-Aldrich

Material consumível

Finalidade do material	Descrição	Fabricante	Referência	Fornecedor
ELISA	Placas de ELISA Nunc-Immuno™ Plates 439454	NUNC	M5785-1CS	Sigma-Aldrich
	Pontas amarelas adaptáveis a pipetas tipo Gilson	Greiner	171017	Frilabo

Análise de dados

Será feito com recurso ao programa SPSS versão 18.0

Calendarização

Duração

Global: 22 meses

Planeamento: 8 meses. Execução: 9 meses.

Datas de início e conclusão

Global: Setembro de 2011 a Julho de 2013

Planeamento: Setembro de 2011 a Abril de 2012

Execução: Maio* de 2012 a Janeiro de 2013

* Logo após aprovação pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar do Porto

Cronograma global das actividades desenvolvidas

	ANO LECTIVO 2011/2012													ANO LECTIVO 2012/2013											
Mês	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07		
Escolha área																									
Integração equipa																									
Escolha tema assunto																									
Identificação problemas																									
Formulação questões																									
Delineament o hipóteses																									
Definição objectivos																									
Revisão bibliográfica																									
Concepção estudo																									
Redacção proposta																									
Submissão proposta																									
Apresentaçã o proposta																									
Execução projecto																									
Análise resultados																									
Preparação resultados																									
Apresentaçã o resultados																									

[illegible]

Cronograma de execução do projecto

[illegible]

Metas a atingir no âmbito do projecto (milestones)

- Início do estudo (observação na consulta, colheita dos dados clínicos e colheitas de sangue para estudo serológico e de exsudados para estudo microbiológico): Maio de 2012
- Recolha de todos os dados (dados clínicos, resultados dos estudos serológicos e microbiológico): 31 de Novembro de 2012
- Início do tratamento dos dados: 1 de Dezembro de 2012

Entregas a efectuar no âmbito do projecto (deliverables)

Entrega da proposta do projecto: 24 de Março de 2012

Submissão à avaliação pela Comissão de Ética do CHP: Abril de 2012

Indicadores de produção

Comunicações orais e posters

- Apresentação oral da proposta nas JIIC (Junho / Julho de 2012)
 - Apresentação oral dos resultados nas JIIC (Junho / Julho 2013)
- Outras possibilidades, a combinar com os Orientadores:
- Apresentação oral da proposta no Serviço de Obstetrícia (Abril de 2012)
 - Apresentação oral dos resultados no Serviço de Obstetrícia (Abril de 2013)
 - Apresentação dos resultados em poster e/ou comunicação oral, em reuniões científicas de Imunologia e/ou Obstetrícia (a determinar posteriormente conforme as oportunidades).

Trabalhos escritos

- Proposta de projecto de investigação (Maio de 2012)
 - Dissertação de MIM (Julho de 2013)
- Outras possibilidades, a combinar com os Orientadores:
- Artigo para publicação em revista médica nacional ou internacional com arbitragem científica (2013)

Referências bibliográficas

1. Jones N, Oliver K, Jones Y, Haines A, Crook D. Carriage of group B streptococcus in pregnant women from Oxford, UK. *Journal of clinical pathology*. 2006;59(4):363-6. Epub 2006/02/14.
2. Melin P. Neonatal group B streptococcal disease: from pathogenesis to preventive strategies. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2011;17(9):1294-303. Epub 2011/06/16.
3. Heath PT, Schuchat A. Perinatal group B streptococcal disease. Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology. 2007;21(3):411-24. Epub 2007/03/06.
4. Baker CJ. Group B streptococcal infections. *Streptococcal infections Clinical aspects, microbiology, and molecular pathogenesis* Oxford University Press, New York, NY. 2000:222-37.
5. Schuchat A. Group B streptococcus. *Lancet*. 1999;353(9146):51-6. Epub 1999/02/19.
6. Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *The New England journal of medicine*. 2000;342(1):15-20. Epub 2000/01/06.
7. Edmond KM, Kortsalioudaki C, Scott S, Schrag SJ, Zaidi AKM, Cousens S, et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. *The Lancet*. 2012.
8. Verani JR, Schrag SJ. Group B streptococcal disease in infants: progress in prevention and continued challenges. *Clinics in perinatology*. 2010;37(2):375-92. Epub 2010/06/24.
9. Nizet V, Ferrieri P, Rubens CE. Molecular pathogenesis of group B streptococcal disease in newborns. *Streptococcal infections: clinical aspects, microbiology and molecular pathogenesis* Oxford University Press, New York, NY. 2000:180-221.
10. Boyer KM, Gotoff SP. Prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease with selective intrapartum chemoprophylaxis. *The New England journal of medicine*. 1986;314(26):1665-9. Epub 1986/06/26.
11. Poyart C, Reglier-Poupet H, Tazi A, Billoet A, Dmytruk N, Bidet P, et al. Invasive group B streptococcal infections in infants, France. *Emerging infectious diseases*. 2008;14(10):1647-9. Epub 2008/10/02.
12. Neto MT. Group B streptococcal disease in Portuguese infants younger than 90 days. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2008;93(2):F90-3. Epub 2007/12/20.
13. Heath PT, Balfour GF, Tighe H, Verlander NQ, Lamagni TL, Efstratiou A. Group B streptococcal disease in infants: a case control study. *Archives of disease in childhood*. 2009;94(9):674-80. Epub 2009/05/22.
14. Bedford H, de Louvois J, Halket S, Peckham C, Hurley R, Harvey D. Meningitis in infancy in England and Wales: follow up at age 5 years. *BMJ*. 2001;323(7312):533-6. Epub 2001/09/08.
15. Edwards MS, Baker CJ. Group B streptococcal infections in elderly adults. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;41(6):839-47. Epub 2005/08/19.
16. Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control*. 2010;59(RR-10):1-36. Epub 2010/11/23.

17. Lopez PP, Benjamin R, Cockburn M, Amortegui JD, Schulman CI, Soffer D, et al. Recent trends in the management of combined pancreatoduodenal injuries. The American surgeon. 2005;71(10):847-52. Epub 2006/02/14.
18. Stoll BJ, Hansen NI, Sanchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. Pediatrics. 2011;127(5):817-26. Epub 2011/04/27.
19. Early-onset and late-onset neonatal group B streptococcal disease--United States, 1996-2004. MMWR Morbidity and mortality weekly report. 2005;54(47):1205-8. Epub 2005/12/02.
20. Webber S, Wilkinson AR, Lindsell D, Hope PL, Dobson SR, Isaacs D. Neonatal pneumonia. Archives of disease in childhood. 1990;65(2):207-11. Epub 1990/02/01.
21. Isaacman DJ, Karasic RB, Reynolds EA, Kost SI. Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. The Journal of pediatrics. 1996;128(2):190-5. Epub 1996/02/01.
22. Oladottir GL, Erlendsdottir H, Palsson G, Bjornsdottir ES, Kristinsson KG, Haraldsson A. Increasing incidence of late-onset neonatal invasive group B streptococcal infections in Iceland. The Pediatric infectious disease journal. 2011;30(8):661-3. Epub 2011/07/15.
23. Gherardi G, Imperi M, Baldassarri L, Pataracchia M, Alfarone G, Recchia S, et al. Molecular epidemiology and distribution of serotypes, surface proteins, and antibiotic resistance among group B streptococci in Italy. Journal of clinical microbiology. 2007;45(9):2909-16. Epub 2007/07/20.
24. Johri AK, Paoletti LC, Glaser P, Dua M, Sharma PK, Grandi G, et al. Group B Streptococcus: global incidence and vaccine development. Nature reviews Microbiology. 2006;4(12):932-42. Epub 2006/11/08.
25. Baltimore RS. Consequences of prophylaxis for group B streptococcal infections of the neonate. Seminars in perinatology. 2007;31(1):33-8. Epub 2007/02/24.
26. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. The New England journal of medicine. 2002;347(4):240-7. Epub 2002/07/26.
27. Towers CV, Carr MH, Padilla G, Asrat T. Potential consequences of widespread antepartum use of ampicillin. American journal of obstetrics and gynecology. 1998;179(4):879-83. Epub 1998/10/28.
28. Terrone DA, Rinehart BK, Einstein MH, Britt LB, Martin JN, Jr., Perry KG. Neonatal sepsis and death caused by resistant Escherichia coli: possible consequences of extended maternal ampicillin administration. American journal of obstetrics and gynecology. 1999;180(6 Pt 1):1345-8. Epub 1999/06/16.
29. Joseph TA, Pyati SP, Jacobs N. Neonatal early-onset Escherichia coli disease. The effect of intrapartum ampicillin. Archives of pediatrics & adolescent medicine. 1998;152(1):35-40. Epub 1998/02/07.
30. Paoletti LC, Madoff LC. Vaccines to prevent neonatal GBS infection. Seminars in neonatology : SN. 2002;7(4):315-23. Epub 2002/10/29.
31. Amundson NR, Flores AE, Hillier SL, Baker CJ, Ferrieri P. DNA macrorestriction analysis of nontypeable group B streptococcal isolates: clonal evolution of nontypeable and type V isolates. Journal of clinical microbiology. 2005;43(2):572-6. Epub 2005/02/08.
32. Ramaswamy SV, Ferrieri P, Flores AE, Paoletti LC. Molecular characterization of nontypeable group B streptococcus. Journal of clinical microbiology. 2006;44(7):2398-403. Epub 2006/07/11.
33. Ramaswamy SV, Ferrieri P, Madoff LC, Flores AE, Kumar N, Tettelin H, et al. Identification of novel cps locus polymorphisms in nontypable group B Streptococcus. Journal of medical microbiology. 2006;55(Pt 6):775-83. Epub 2006/05/12.
34. Wilson CB, Weaver WM. Comparative susceptibility of group B streptococci and Staphylococcus aureus to killing by oxygen metabolites. The Journal of infectious diseases. 1985;152(2):323-9. Epub 1985/08/01.

35. Madureira P, Andrade EB, Gama B, Oliveira L, Moreira S, Ribeiro A, et al. Inhibition of IL-10 production by maternal antibodies against Group B Streptococcus GAPDH confers immunity to offspring by favoring neutrophil recruitment. *PLoS pathogens*. 2011;7(11):e1002363. Epub 2011/11/25.
36. Madureira P, Baptista M, Vieira M, Magalhaes V, Camelo A, Oliveira L, et al. *Streptococcus agalactiae* GAPDH is a virulence-associated immunomodulatory protein. *J Immunol*. 2007;178(3):1379-87. Epub 2007/01/24.
37. Cancelier AC, Petronilho F, Reinke A, Constantino L, Machado R, Ritter C, et al. Inflammatory and oxidative parameters in cord blood as diagnostic of early-onset neonatal sepsis: a case-control study. *Pediatric critical care medicine : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2009;10(4):467-71. Epub 2009/03/25.
38. Romagnoli C, Frezza S, Cingolani A, De Luca A, Puopolo M, De Carolis MP, et al. Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *European journal of pediatrics*. 2001;160(6):345-50. Epub 2001/06/26.
39. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*. 2001;19:683-765. Epub 2001/03/13.
40. Zuany-Amorim C, Haile S, Leduc D, Dumarey C, Huerre M, Vargaftig BB, et al. Interleukin-10 inhibits antigen-induced cellular recruitment into the airways of sensitized mice. *The Journal of clinical investigation*. 1995;95(6):2644-51. Epub 1995/06/01.
41. Zuany-Amorim C, Creminon C, Nevers MC, Nahori MA, Vargaftig BB, Pretolani M. Modulation by IL-10 of antigen-induced IL-5 generation, and CD4+ T lymphocyte and eosinophil infiltration into the mouse peritoneal cavity. *J Immunol*. 1996;157(1):377-84. Epub 1996/07/01.
42. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nature reviews Immunology*. 2010;10(3):170-81. Epub 2010/02/16.
43. Rouse DJ, Goldenberg RL, Cliver SP, Cutter GR, Mennemeyer ST, Fargason CA, Jr. Strategies for the prevention of early-onset neonatal group B streptococcal sepsis: a decision analysis. *Obstetrics and gynecology*. 1994;83(4):483-94. Epub 1994/04/01.
44. Baker CJ, Barrett FF. Group B streptococcal infections in infants. The importance of the various serotypes. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1974;230(8):1158-60. Epub 1974/11/25.
45. Marshall-Clarke S, Reen D, Tasker L, Hassan J. Neonatal immunity: how well has it grown up? *Immunology today*. 2000;21(1):35-41. Epub 2000/01/19.
46. Heath PT, Balfour G, Weisner AM, Efstratiou A, Lamagni TL, Tighe H, et al. Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet*. 2004;363(9405):292-4. Epub 2004/01/31.
47. Weisner AM, Johnson AP, Lamagni TL, Arnold E, Warner M, Heath PT, et al. Characterization of group B streptococci recovered from infants with invasive disease in England and Wales. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2004;38(9):1203-8. Epub 2004/05/06.
48. Tamura GS, Kuypers JM, Smith S, Raff H, Rubens CE. Adherence of group B streptococci to cultured epithelial cells: roles of environmental factors and bacterial surface components. *Infection and immunity*. 1994;62(6):2450-8. Epub 1994/06/01.
49. Schwarz-Linek U, Hook M, Potts JR. The molecular basis of fibronectin-mediated bacterial adherence to host cells. *Molecular microbiology*. 2004;52(3):631-41. Epub 2004/04/23.
50. Bennett PR, Rose MP, Myatt L, Elder MG. Preterm labor: stimulation of arachidonic acid metabolism in human amnion cells by bacterial products. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1987;156(3):649-55. Epub 1987/03/01.
51. Doran KS, Nizet V. Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection: no longer in its infancy. *Molecular microbiology*. 2004;54(1):23-31. Epub 2004/10/02.

52. Tyrrell GJ, Kennedy A, Shokoples SE, Sherburne RK. Binding and invasion of HeLa and MRC-5 cells by *Streptococcus agalactiae*. *Microbiology*. 2002;148(Pt 12):3921-31. Epub 2002/12/14.
53. Doran KS, Chang JC, Benoit VM, Eckmann L, Nizet V. Group B streptococcal beta-hemolysin/cytolysin promotes invasion of human lung epithelial cells and the release of interleukin-8. *The Journal of infectious diseases*. 2002;185(2):196-203. Epub 2002/01/25.
54. Nizet V, Gibson RL, Chi EY, Framson PE, Hulse M, Rubens CE. Group B streptococcal beta-hemolysin expression is associated with injury of lung epithelial cells. *Infection and immunity*. 1996;64(9):3818-26. Epub 1996/09/01.
55. Nizet V, Kim KS, Stins M, Jonas M, Chi EY, Nguyen D, et al. Invasion of brain microvascular endothelial cells by group B streptococci. *Infection and immunity*. 1997;65(12):5074-81. Epub 1997/12/11.
56. Doran KS, Liu GY, Nizet V. Group B streptococcal beta-hemolysin/cytolysin activates neutrophil signaling pathways in brain endothelium and contributes to development of meningitis. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(5):736-44. Epub 2003/09/04.
57. Chaffin DO, Beres SB, Yim HH, Rubens CE. The serotype of type Ia and III group B streptococci is determined by the polymerase gene within the polycistronic capsule operon. *Journal of bacteriology*. 2000;182(16):4466-77. Epub 2000/07/27.
58. Jerlstrom PG, Talay SR, Valentin-Weigand P, Timmis KN, Chhatwal GS. Identification of an immunoglobulin A binding motif located in the beta-antigen of the c protein complex of group B streptococci. *Infection and immunity*. 1996;64(7):2787-93. Epub 1996/07/01.
59. Bohnsack JF, Widjaja K, Ghazizadeh S, Rubens CE, Hillyard DR, Parker CJ, et al. A role for C5 and C5a-ase in the acute neutrophil response to group B streptococcal infections. *The Journal of infectious diseases*. 1997;175(4):847-55. Epub 1997/04/01.
60. Harris TO, Shelver DW, Bohnsack JF, Rubens CE. A novel streptococcal surface protease promotes virulence, resistance to opsonophagocytosis, and cleavage of human fibrinogen. *The Journal of clinical investigation*. 2003;111(1):61-70. Epub 2003/01/04.
61. Friedman CA, Robbins KK, Temple DM, Miller CJ, Rawson JE. Survival and neutrophil kinetics in infants with severe group B streptococcal disease treated with gamma globulin. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 1996;16(6):439-42. Epub 1996/11/01.
62. Hill HR, Bohnsack JF, Morris EZ, Augustine NH, Parker CJ, Cleary PP, et al. Group B streptococci inhibit the chemotactic activity of the fifth component of complement. *J Immunol*. 1988;141(10):3551-6. Epub 1988/11/15.
63. Koenig JM, Yoder MC. Neonatal neutrophils: the good, the bad, and the ugly. *Clinics in perinatology*. 2004;31(1):39-51. Epub 2004/06/09.
64. Buhrer C, Graulich J, Stibenz D, Dudenhausen JW, Obladen M. L-selectin is down-regulated in umbilical cord blood granulocytes and monocytes of newborn infants with acute bacterial infection. *Pediatric research*. 1994;36(6):799-804. Epub 1994/12/01.
65. Ring A, Braun JS, Pohl J, Nizet V, Stremmel W, Shenep JL. Group B streptococcal beta-hemolysin induces mortality and liver injury in experimental sepsis. *The Journal of infectious diseases*. 2002;185(12):1745-53. Epub 2002/06/27.
66. Ring A, Braun JS, Nizet V, Stremmel W, Shenep JL. Group B streptococcal beta-hemolysin induces nitric oxide production in murine macrophages. *The Journal of infectious diseases*. 2000;182(1):150-7. Epub 2000/07/07.
67. Oddie S, Embleton ND. Risk factors for early onset neonatal group B streptococcal sepsis: case-control study. *BMJ*. 2002;325(7359):308. Epub 2002/08/10.
68. McDonald HM, Chambers HM. Intrauterine infection and spontaneous midgestation abortion: is the spectrum of microorganisms similar to that in preterm

- labor? Infectious diseases in obstetrics and gynecology. 2000;8(5-6):220-7. Epub 2001/02/28.
69. Desa DJ, Trevenen CL. Intrauterine infections with group B beta-haemolytic streptococci. British journal of obstetrics and gynaecology. 1984;91(3):237-9. Epub 1984/03/01.
70. Malek A, Sager R, Kuhn P, Nicolaides KH, Schneider H. Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. Am J Reprod Immunol. 1996;36(5):248-55. Epub 1996/11/01.
71. Lin FY, Weisman LE, Troendle J, Adams K. Prematurity is the major risk factor for late-onset group B streptococcus disease. The Journal of infectious diseases. 2003;188(2):267-71. Epub 2003/07/11.
72. Godambe S, Shah PS, Shah V. Breast milk as a source of late onset neonatal sepsis. The Pediatric infectious disease journal. 2005;24(4):381-2. Epub 2005/04/09.
73. Schuchat A, Oxtoby M, Cochi S, Sikes RK, Hightower A, Plikaytis B, et al. Population-based risk factors for neonatal group B streptococcal disease: results of a cohort study in metropolitan Atlanta. The Journal of infectious diseases. 1990;162(3):672-7. Epub 1990/09/01.
74. Takayanagi T, Tanaka H, Yoshinaga M, Aoki M, Teshima H, Fukuda M, et al. An outbreak of group B streptococcus infection in a neonatal nursery and subsequent trial for prophylaxis of nosocomial transmission. Acta paediatrica Japonica; Overseas edition. 1994;36(1):88-90. Epub 1994/02/01.
75. Noya FJ, Rench MA, Metzger TG, Colman G, Naidoo J, Baker CJ. Unusual occurrence of an epidemic of type Ib/c group B streptococcal sepsis in a neonatal intensive care unit. The Journal of infectious diseases. 1987;155(6):1135-44. Epub 1987/06/01.
76. Easmon CS, Hastings MJ, Clare AJ, Bloxham B, Marwood R, Rivers RP, et al. Nosocomial transmission of group B streptococci. Br Med J (Clin Res Ed). 1981;283(6289):459-61. Epub 1981/08/15.
77. Kotiw M, Zhang GW, Daggard G, Reiss-Levy E, Tapsall JW, Numa A. Late-onset and recurrent neonatal Group B streptococcal disease associated with breast-milk transmission. Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society. 2003;6(3):251-6. Epub 2003/04/11.
78. Fluegge K, Siedler A, Heinrich B, Schulte-Moenting J, Moennig MJ, Bartels DB, et al. Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. Pediatrics. 2006;117(6):e1139-45. Epub 2006/05/10.
79. Lim DV, Morales WJ, Walsh AF, Kazanis D. Reduction of morbidity and mortality rates for neonatal group B streptococcal disease through early diagnosis and chemoprophylaxis. Journal of clinical microbiology. 1986;23(3):489-92. Epub 1986/03/01.
80. Tuppurainen N, Hallman M. Prevention of neonatal group B streptococcal disease: intrapartum detection and chemoprophylaxis of heavily colonized parturients. Obstetrics and gynecology. 1989;73(4):583-7. Epub 1989/04/01.
81. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control. 1996;45(RR-7):1-24. Epub 1996/05/31.
82. ACOG committee opinion. Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. Number 173--June 1996. Committee on Obstetric Practice. American College of Obstetrics and Gynecologists. International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics. 1996;54(2):197-205. Epub 1996/08/01.
83. Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. MMWR Recommendations and

- reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control. 2002;51(RR-11):1-22. Epub 2002/09/05.
84. Simoes JA, Alves VM, Fracalanza SE, de Camargo RP, Mathias L, Milanez HM, et al. Phenotypical characteristics of group B streptococcus in parturients. The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases. 2007;11(2):261-6. Epub 2007/07/13.
85. Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, Roome A, Arnold KE, Craig AS, et al. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. The New England journal of medicine. 2002;347(4):233-9. Epub 2002/07/26.
86. Bergeron MG, Ke D, Menard C, Picard FJ, Gagnon M, Bernier M, et al. Rapid detection of group B streptococci in pregnant women at delivery. The New England journal of medicine. 2000;343(3):175-9. Epub 2000/07/20.
87. Kuruvilla KA, Thomas N, Jesudasan MV, Jana AK. Neonatal Group B Streptococcal bacteraemia in India: ten years' experience. Acta Paediatr. 1999;88(9):1031-2. Epub 1999/10/16.
88. Madhi SA, Radebe K, Crewe-Brown H, Frasch CE, Arakere G, Mokhachane M, et al. High burden of invasive Streptococcus agalactiae disease in South African infants. Annals of tropical paediatrics. 2003;23(1):15-23. Epub 2003/03/22.
89. Cole JN, Henningham A, Gillen CM, Ramachandran V, Walker MJ. Human pathogenic streptococcal proteomics and vaccine development. Proteomics Clinical applications. 2008;2(3):387-410. Epub 2008/03/01.
90. Margarit I, Rinaudo CD, Galeotti CL, Maione D, Ghezzi C, Buttazzoni E, et al. Preventing bacterial infections with pilus-based vaccines: the group B streptococcus paradigm. The Journal of infectious diseases. 2009;199(1):108-15. Epub 2008/12/18.
91. Carvalho V, Castanheira P, Madureira P, Ferreira SA, Costa C, Teixeira JP, et al. Self-assembled dextrin nanogel as protein carrier: controlled release and biological activity of IL-10. Biotechnology and bioengineering. 2011;108(8):1977-86. Epub 2011/03/11.
92. Oliveira L, Madureira P, Andrade EB, Bouaboud A, Morello E, Ferreira P, et al. Group B Streptococcus GAPDH Is Released upon Cell Lysis, Associates with Bacterial Surface, and Induces Apoptosis in Murine Macrophages. PloS one. 2012;7(1):e29963. Epub 2012/02/01.
93. Gomes MMM. Estudo da Colonização por Streptococcus agalactiae em Grávidas do Hospital Geral de Santo António. 2010.

QUESTÕES ÉTICAS

Informação dos participantes e consentimento informado

Informação dos participantes

As médicas obstetras ficarão responsáveis por esclarecer as participantes e entregar-lhes o folheto informativo que se encontra em anexo (Anexo 1).

Consentimento informado

As médicas obstetras ficarão responsáveis por solicitar a assinatura do consentimento informado, cujo modelo se encontra em anexo (Anexo 2).

Outras questões com implicações éticas

Riscos e benefícios

Não há riscos associados à participação no estudo, para além dos riscos mínimos associados à punção venosa. Também não existem benefícios directos para as participantes.

Confidencialidade e anonimização

A confidencialidade dos dados está garantida.

Os formulários de pedido de colheita de sangue para estudo serológico encontram-se numerados, de forma a fazer corresponder a cada participante um nº de identificação. A correspondência entre os números e a identificação do doente será do conhecimento e responsabilidade da orientadora para a DIIC, Margarida Lima.

A consulta dos resultados do exame microbiológico será realizada pela médica obstetra da grávida em questão, sendo o procedimento da responsabilidade da co-orientadora, Filomena Taborda.

Outros aspectos

Os produtos biológicos que saírem para outras instituições (ICBAS) serão anonimizados.

A informação fornecida à aluna para fins de investigação (dados demográficos e dados clínicos sumários) será anonimizada e a recolha dos dados é da responsabilidade das médicas obstetras.

As amostras de soro das grávidas serão criopreservadas até à realização dos estudos serológicos e não serão usadas para outros fins que não os do estudo em causa; após confirmar que não há necessidade de repetição das análises, as amostras excedentárias serão destruídas.

PLANO FINANCEIRO

Orçamento

Referir se serão (ou não) efectuadas consultas, internamentos, exames complementares de diagnóstico no CHP, especificamente no âmbito do projecto.

	Custo estimado (€)
Reagentes e material consumível de laboratório * ver tabela seguinte	1684,24
Material administrativo (fotocópias, folhas, etc.)	30,00
Impressão de poster para apresentação de resultados	50,00
Inscrição aluno em congresso médico	200,00
Organização das Jornadas de Iniciação à Investigação Clínica	50,00
TOTAL	€ 2014,24

Reagentes e material consumível								
Finalidade	Designação	Fabricante	Referência	Fornecedor	Preço unitário (€)	Nº unidades	Preço (€) sem IVA	Subtotal (€)
ELISA	Bovine Serum Albumine (BSA)	Sigma-Aldrich	A7906	Sigma-Aldrich	236,50	1 x 100g	236,50	1369,30
	Goat anti-Human IgG AP, Secondary Antibody	Southern Biotech	2040-04	Reagente 5	300,00	1 x 1 ml	300,00	
	EDTA	Sigma-Aldrich	E5134-50G	Sigma-Aldrich	17,80	1 x 50g	17,80	
	Magnesium Chloride, Hexahydrate	Calbiochem	442615-500GM	Merck	49,00	1 x 500g	49,00	
	Sodium Chloride	Calbiochem	567440-500GM	Merck	39,00	1 x 500g	39,00	
	Sodium hydrogen carbonate	Merck	1063232500	Merck	64,20	1x 2500g	64,20	
	4-Nitrophenyl phosphate disodium salt hexahydrate	Sigma-Aldrich	N9389-50TAB	Sigma-Aldrich	202,00	1 x 50 TAB	202,00	
	Tris (hydroxymethyl) aminomethane	Merck	1083820100	Merck	29,70	1x 100g	29,70	
	Tween-20	Sigma-Aldrich	P1379-100ML	Sigma-Aldrich	28,50	1 x 100 ml	28,50	
	Placas de ELISA Nunc-	NUNC	M5785-1CS	Sigma-Aldrich	162,60	1x 60	162,60	

	Immuno™ Plates 439454							
	Pontas amarelas adaptáveis a pipetas tipo Gilson	Greiner	17101 7	Frilabo	4	30 x 500	240,0 0	
TOTAL sem IVA								€ 1369,30
TOTAL com IVA (23%)								€ 1684,24

Financiamento

O estudo será financiado pelo ICBAS/UP, através de uma bolsa atribuída à DIIC, e pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) e Programa Operacional Fatores de Competitividade (COMPETE) através do financiamento nº PTDC/SAU-MIC/111387/2009, intitulado “Pre-clinical assays of a GAPDH-based vaccine against Group B *Streptococcus* infection”.

GLOSSÁRIO

Abreviaturas, siglas e acrónimos

CRMAP, Centro de Responsabilidade de Meios de Apoio ao Diagnóstico.
CC, Central de Colheitas.
CHP, Centro Hospitalar do Porto
DIFF, Departamento de Imuno-Fisiologia e Farmacologia.
DIIC, Disciplina de Iniciação à Investigação Clínica.
DM, Departamento da Mulher.
HSA, Hospital de Santo António.
ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.
JIIC, Jornadas de Iniciação à Investigação Clínica.
LC, Laboratório de Citometria.
LM, Laboratório de Microbiologia.
MIM, Mestrado Integrado em Medicina.
SHC, Serviço de Hematologia Clínica.
SM, Serviço de Microbiologia.
SO, Serviço de Obstetrícia.
UP, Universidade do Porto.

ANEXOS

LISTA DE ANEXOS

- Folha de rosto de estudo de investigação
- Pedidos de autorização (Presidente do Conselho de Administração do CHP, Presidente da Comissão de Ética para a Saúde do CHP, Directora do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do CHP).
- Termos de responsabilidade (Aluno, Orientador, Regente da DIIC)
- Autorizações locais (Departamentos e Serviços do CHP envolvidos no projecto)
- Folheto informativo (Anexo 1)
- Termos de consentimento informado (Anexo 2)
- Formulário de recolha de dados clínicos e laboratoriais e requisição para colheita de sangue (Anexo 3)

Lista de documentos para

TRABALHOS ACADÉMICOS DE INVESTIGAÇÃO (que conferem grau)

Projectos de Licenciatura, Dissertações de Mestrado e Teses de Doutoramento: É da responsabilidade do proponente (Aluno) reunir os documentos necessários e entregá-los no Secretariado com antecedência mínima de 90 dias em relação à data prevista para o início do estudo.

	Data de entrega (ou NA, não aplicável)	Secretariado (Assinatura)
Documentos comprovativos		
Inscrição em Licenciatura, Mestrado ou Doutoramento	NA	
Cartas do Aluno, a solicitar autorização institucional		
Presidente do Conselho de Administração	Sim	
Presidente da CES	Sim	
Director do DEFI	Sim	
Termos de responsabilidade de Alunos e Orientadores		
Aluno	Sim	
Orientador do Projecto	Sim	
Supervisor do Projecto, Docente responsável pela DIIC	Sim	
Termos de autorização local (no CHP)		
Responsáveis por Unidades / Gabinetes / Sectores*	Sim	
Directores de Serviço	Sim	
Directores / Conselhos de Gestão de Departamentos	Sim	
Proposta		
Folha de Rosto do Estudo de Investigação (modelo próprio)	Sim	
Proposta de Trabalho Académico de Investigação	Sim	
Anexos		
Curriculum Vitae do Aluno	NA	
Termo de Consentimento Informado	Sim	
Folheto com informação para dar aos Participantes	Sim	
Carta a solicitar dispensa de Consentimento Informado*	NA	
Inquéritos / questionários ou guiões de entrevistas*	NA	
Formulário para recolha de dados dos processos clínicos*	Sim	
Outros documentos*	NA	

* Se aplicável.

SECRETARIADO: Data de conclusão da entrega de documentação

Data

___/___/___

Assinatura

Folha de rosto do estudo de investigação

TÍTULO

Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação: Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae*.

CLASSIFICAÇÃO

Trabalho Académico de Investigação (Mestrado Integrado em Medicina)
(Projecto de Investigação)

VERSÃO

Novo

CALENDARIZAÇÃO

Data início: Maio de 2012 (data prevista para o início da execução do projecto)
Data conclusão: Julho de 2013
Prazo a cumprir: Maio de 2012

ALUNOS E ORIENTADORES

Aluno

Cátia Iracema Maia Morais, ICBAS/UP; Mestrado Integrado em Medicina, 5º ano
ciracemamorais@gmail.com, 916791988

Orientadores do projecto

Orientadora: Paula Ferreira, professora associada e investigadora; Laboratório de Imunologia do ICBAS/UP.

pauferr@icbas.up.pt, 918491455

Co-orientadora: Filomena Taborda: médica, obstetra, professora auxiliar, assistente hospitalar graduada, Serviço de Obstetrícia do CHP.

filotaborda@gmail.com, 919550147

Supervisor do projecto / Responsável pela DIIC

Margarida Lima: médica, imunohemoterapeuta, assistente hospitalar graduada, Serviço de Hematologia Clínica do CHP; responsável pelo Laboratório de Citometria; professora auxiliar convidada do ICBAS; regente da DIIC.

mmc.lima@clix.pt; director.defi@hgsa.min-saude.pt; 966 327 115

OUTROS INTERVENIENTES

Investigadores

Pedro Madureira: Bolseiro PosDoc, Laboratório de Imunologia do ICBAS/UP.

madureira@icbas.up.pt

Colaboradores

Médicas obstetras: Fernanda Pacheco, Graça Buchner, Madalena Moreira, Serviço de Obstetrícia do CHP.

Técnicas: Lurdes Oliveira, Laboratório de Citometria, Serviço de Hematologia Clínica do CHP.

PROMOTOR O próprio

INSTITUIÇÕES E SERVIÇOS

Unidades, Departamentos e Serviço dos CHP (de entre as indicadas, mencione qual é a proponente)

Serviço de Obstetrícia do Departamento da Mulher, Centro de Responsabilidade
do Centro Materno-Infantil do Norte (Maternidade Júlio Dinis), CHP

Outras Instituições intervenientes (Indique outras Instituições, Unidades, Departamentos e Serviços)

Laboratório de Imunologia do ICBAS/UP

CARACTERÍSTICAS do estudo

Alvo do estudo envolvidos

Humanos

Natureza do estudo (desenho)

Clínico / Laboratorial
Transversal

Países / Instituições

Nacional / Institucional

Características do estudo

Analítico / Observacional /

Participantes

Existência de grupo controlo: Sim

Seleção dos Participantes: Não aleatória (de conveniência, consecutiva)

Estudos observacionais:

Tipo: Casos-controlos (estudo microbiológico do exsudado positivo versus negativo)

Estudos experimentais:

Não se aplica.

Outros aspectos relevantes para a apreciação do estudo:

Participação de grupos vulneráveis Sim (Grávidas)

Convocação de doentes / participantes Não

Consentimento informado Sim

Inquéritos / questionários Não

Entrevistas Não

Colheita de produtos biológicos Sim (CHP)

Armazenamento de produtos biológicos Sim (soro, até à realização do estudo serológico)

Criação de bancos de produtos biológicos Não

Realização de exames / análises Sim
(Microbiológicos/Rotina/CHP; Serológicos/Investigação/ICBAS)

Realização de estudos genéticos Não

Recolha de dados Sim (demográficos, clínicos e analíticos)

Criação de bases de dados Não (registo em ficheiro Excel
anonimizado)

Saída para outras instituições Sim (ICBAS/amostras de soro
anonimizadas)

ORÇAMENTO E FINANCIAMENTO

Orçamento total: **2014,24** Euros

Contrato financeiro em anexo: Não

Financiamento: Interno (CHP) 0,00 Euros Externo (ICBAS) **2014,24** Euros

Entidades financiadoras: ICBAS (verba disponibilizada para a DIIC)

INDICADORES

Apresentações nas JIIC; Dissertação do MIM.

Data:

Assinatura do proponente (Aluno):

Pedidos de autorização institucional

Trabalho académico de investigação: **Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação: Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae***

Aluna da DIIC do curso de MIM do ICBAS/UP e do CHP: **Cátia Iracema Maia Morais**

Presidente do Conselho de Administração do CHP

Exmo. Senhor Presidente do Conselho de Administração do CHP

Cátia Iracema Maia Morais, na qualidade de aluna, vem por este meio, solicitar a Vossa Exa. autorização para realizar no Centro Hospitalar do Porto o estudo de investigação acima mencionado, de acordo com o programa de trabalhos e os meios apresentados.

Data

Assinatura

___/___/___

Presidente da Comissão de Ética para a Saúde do CHP

Exma. Senhora Presidente da Comissão de Ética para a Saúde do CHP

Cátia Iracema Maia Morais, na qualidade de aluna, vem por este meio, solicitar a Vossa Exa. autorização para realizar no Centro Hospitalar do Porto o estudo de investigação acima mencionado, de acordo com o programa de trabalhos e os meios apresentados.

Data

Assinatura

___/___/___

Directora do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do CHP

Exma. Senhora Directora do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do CHP

Cátia Iracema Maia Morais, na qualidade de aluna, vem por este meio, solicitar a Vossa Exa. autorização para realizar no Centro Hospitalar do Porto o estudo de investigação acima mencionado, de acordo com o programa de trabalhos e os meios apresentados.

Data

Assinatura

___/___/___

Termos de responsabilidade

Trabalho académico de investigação: **Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação: Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae***

Aluno da DIIC do curso de MIM do ICBAS/UP e do CHP: **Cátia Iracema Maia Morais**

Aluno

Na qualidade de aluna, comprometo-me a executar o estudo de investigação acima mencionado, de acordo com o programa de trabalhos e os meios apresentados, respeitando os princípios éticos e deontológicos e as normas internas da instituição.

Aluno

Data

Assinatura

Cátia Morais

____/____/____

Orientador do projecto

Na qualidade de orientadora, solicito autorização do Conselho de Administração para que a aluna acima referida possa desenvolver no CHP o seu estudo de investigação. Informo que me comprometo a prestar a orientação necessária para uma boa execução do mesmo e a acompanhar a aluna nas diferentes fases da sua realização, de acordo com o programa de trabalhos e meios apresentados, bem como por zelar pelo respeito dos princípios éticos e deontológicos e pelo cumprimento das normas internas da instituição.

Nome

Data

Assinatura

Paula Ferreira

____/____/____

Instituição

Departamento

Serviço / Sector

ICBAS

Departamento de Imunofisiologia e Farmacologia

Laboratório de Imunologia

Supervisor do projecto / Responsável pela DIIC

Na qualidade de docente responsável pela DIIC e supervisora da aluna no CHP, comprometo-me a prestar a orientação necessária para uma boa execução do estudo de investigação, de acordo com o programa de trabalhos e meios apresentados. Mais declaro que acompanharei a aluna, responsabilizando-me por supervisionar a execução do trabalho no CHP, bem como por zelar pelo respeito dos princípios éticos e deontológicos e pelo cumprimento das normas internas da instituição.

Nome

Data

Assinatura

Margarida Lima

____/____/____

Departamento: DEFI

Termos de autorização local

Trabalho académico de investigação: **Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação: Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae***

Aluno da DIIC do curso de MIM do ICBAS/UP e do CHP: **Cátia Iracema Maia Morais**

Directores de Centro de Responsabilidade

Na qualidade de Director de Serviço, declaro que autorizo a execução do estudo de investigação acima mencionado e comprometo-me a prestar as condições necessárias para a boa execução do mesmo, de acordo com o programa de trabalhos e os meios apresentados.

Serviço	Nome do Director	Data	Assinatura
Director de Centro de Responsabilidade Materno-Infantil	Paulo Sarmento	___/___/___	_____

Directores de Departamento / Serviço

Na qualidade de Director do Departamento, declaro que autorizo a execução do estudo de investigação acima mencionado e comprometo-me a prestar as condições necessárias para a boa execução do mesmo, de acordo com o programa de trabalhos e os meios apresentados.

Departamento	Nome do Director	Data	Assinatura
Mulher	Serafim Guimarães	___/___/___	_____
Serviço	Nome do Director	Data	Assinatura
Obstetrícia	Teresa Oliveira	___/___/___	_____

Responsáveis por Unidades, Gabinetes ou Sectores

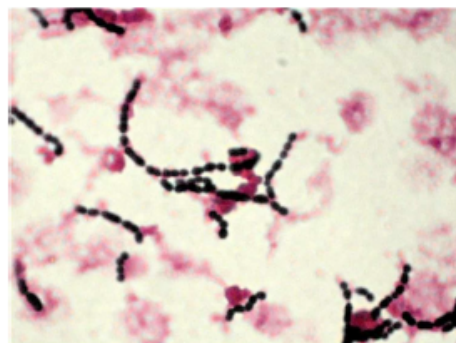
Na qualidade de responsável pelo laboratório, dou parecer favorável à execução do estudo de investigação acima mencionado e comprometo-me a prestar as condições necessárias para a boa execução do mesmo, de acordo com o programa de trabalhos e os meios apresentados.

Unidade / Gabinete / Sector	Nome do Responsável	Data	Assinatura
Laboratório de Citometria do SHC do CHP	Margarida Lima	___/___/___	_____

(Nota: Uma vez que a intervenção do Laboratório de Citometria se limita à recepção provenientes do Serviço de Obstetrícia, separação do soro e seu armazenamento até as amostras serem enviadas ao ICBAS, envia-se apenas a autorização da médica responsável pelo Laboratório)

O que é o GBS?

O GBS, ou Estreptococo do grupo B, é uma bactéria que vive nos intestinos e na vagina de 3 em cada 10 mulheres, mas na maior parte dos casos estas mulheres não ficam doentes – são portadoras.



Qual o risco de ser portadora?

Quando uma mulher portadora de GBS é mãe, existe o risco de transmitir a bactéria ao bebé pouco antes ou durante o parto.

Como os bebés têm poucas defesas estão mais susceptíveis a desenvolver infecção quando o GBS entra no seu organismo.

Ser portadora de GBS pode ainda causar abortamento.

Este projecto de Investigação foi desenvolvido no contexto da Disciplina de Introdução à Investigação (DIIC) do Mestrado Integrado em Medicina do ICBAS –

Universidade do Porto, pela aluna:

Cátia Iracema Moraes

Orientadora: Prof. Dr.ª Paula Ferreira

Co-Orientadora: Dr.ª Filomena Taborda

Responsável da DIIC: Prof.ª Dr.ª Margarida Lima

Se tiver dúvidas deve esclarecê-las com a sua médica obstetra.

Participação num Projecto de Investigação Clínica

*Anticorpos IgG anti-
GAPDH no soro de
grávidas durante o 3º
trimestre de gestação*

*- Correlação com a
colonização recto-
vaginal por
Streptococcus
agalactiae*



Folheto Informativo

Que acontece a uma criança infectada por GBS?

Na primeira semana de vida o GBS causa maioritariamente pneumonias graves e infecção generalizada se a bactéria atinge a corrente sanguínea; depois da primeira semana é mais frequente que a infecção atinja o sistema nervoso do bebé.

A infecção pode deixar sequelas na visão e audição da criança, bem como causar atrasos no desenvolvimento e alterações neurológicas. Numa pequena percentagem dos casos (6,6%) a infecção por GBS pode levar à morte.

Como posso saber se sou portadora?

Em Portugal, todas as mulheres grávidas fazem o rastreio entre as 32 e as 35 semanas de gestação, ou seja, exactamente nesta consulta que está a ter.

O exame é simples, sendo necessário apenas colher uma amostra de conteúdo vaginal e rectal com uma espécie de cotonete, que depois é analisado no laboratório.

E se eu for portadora, que faço?

Quando se detecta que uma grávida é portadora de GBS, ela fica imediatamente sinalizada para fazer um antibiótico algumas horas antes do parto, reduzindo muito a probabilidade de contaminar o bebé.

Mas continua a haver risco de transmissão?

O risco é muito baixo, mas a realidade é que continuam a ocorrer infecções por GBS em bebés cujas mães tiveram um resultado negativo no rastreio e mesmo em algumas que fizeram antibiótico.

No sentido de contornar esse problema, um grupo de investigadores do ICBAS (Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar) está a desenvolver uma vacina.

Vacinando as mulheres seria possível impedir que fossem portadoras no fim da gravidez e, portanto, que transmitissem a bactéria aos



bebés.

Em conjunto com eles, uma aluna do 5º ano de Medicina pretende estudar as defesas (anticorpos) das grávidas contra o GBS e perceber se as mulheres com defesas são ou não portadoras, ou seja, se as defesas são realmente eficazes.

É neste sentido que gostaríamos de pedir a sua colaboração.

O que precisariam de mim?

Se aceitar participar neste estudo, precisaríamos de:

- Uma pequena amostra de sangue para pesquisar a presença das defesas (anticorpos) contra uma partícula do GBS
- Aceder ao resultado do seu teste de

rastreio para saber se é ou não portadora da bactéria

- E finalmente que respondesse a algumas questões que lhe serão postas pela sua médica obstetra.

Se ainda tiver dúvidas, por favor exponha-as à sua médica.

A participação neste estudo é voluntária e não implica qualquer custo ou deslocações adicionais da sua parte.

ANEXO 2 - Termo de consentimento informado

Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação: Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae*

Eu, abaixo-assinado _____,

fui informado de que o estudo de investigação acima mencionado se destina a estudar as defesas (anticorpos) de grávidas contra uma bactéria chamada *Streptococcus agalactiae*, também conhecida por “GBS”, nas mulheres que são portadoras ou não desta bactéria.

Sei que neste estudo está prevista a colheita de uma amostra de sangue que vai ser usada para fazer análises e que algumas análises não podem ser realizadas neste hospital e que, por isso, têm que ser feitas no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.

Foi-me garantido que todos os dados relativos à identificação dos participantes são confidenciais.

Sei que posso recusar-me a participar ou interromper a qualquer momento a participação no estudo, sem nenhum tipo de penalização por este facto.

Compreendi a informação que me foi dada, tive oportunidade de fazer perguntas e as minhas dúvidas foram esclarecidas e aceito participar de livre vontade no estudo acima mencionado.

Concordo que seja feita a colheita de amostras de sangue para realizar as análises que fazem parte deste estudo.

Também autorizo a divulgação dos resultados obtidos no meio científico, garantindo o anonimato.

Nome do Participante no estudo

Data

____/____/____

Assinatura

Nome do Médico Responsável

Data

____/____/____

Assinatura

Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação - Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae*

A preencher pela médica obstetra assistente:

A participante compreendeu a informação que lhe foi fornecida, aceitou participar no estudo e assinou o termo de consentimento informado?

Sim ☐ / Não ☐

Médica obstetra assistente			
Dr.ª Filomena Taborda <input type="checkbox"/>	Dr.ª Fernanda Pacheco <input type="checkbox"/>	Dr.ª Graça Buchner <input type="checkbox"/>	Dr.ª Madalena Moreira <input type="checkbox"/>
Participante			
Idade: ____ anos	Tempo de Gestação:	____ semanas e ____ dias	
História obstétrica prévia			
Número de gestações prévias: ____	Rastreio Prévio GBS+? Sim <input type="checkbox"/> / Não <input type="checkbox"/>	Antibioprofilaxia Intra-Parto? Sim <input type="checkbox"/> / Não <input type="checkbox"/>	Abortamento prévio? Sim <input type="checkbox"/> / Não <input type="checkbox"/>
Estado imunológico			
Imunodeficiência Congénita ou Adquirida? Sim <input type="checkbox"/> / Não <input type="checkbox"/>	Infecção nos últimos 30 dias? Sim <input type="checkbox"/> / Não <input type="checkbox"/>	Antibioterapia nos últimos 30 dias? Sim <input type="checkbox"/> / Não <input type="checkbox"/>	Corticoterapia ou outro imunossupressor nos últimos 30 dias? Sim <input type="checkbox"/> / Não <input type="checkbox"/>

Assinatura _____

Data ____/____/____

GRATA PELA COLABORAÇÃO:

Cátia Iracema Morais – MIM - ICBAS-UP

Orientadora: Prof. Dr. Paula Ferreira

Co-Orientadora: Dr.ª Filomena Taborda

Responsável da DIIC:

Prof. Dr. Margarida Lima

Anticorpos IgG anti-GAPDH no soro de grávidas durante o 3º trimestre de gestação - Correlação com a colonização recto-vaginal por *Streptococcus agalactiae*

Informação para o Centro de Colheitas da Maternidade Júlio Dinis

[Colar autocolante identificador da utente participante no estudo]

- Colheita de 9 ml de sangue venoso periférico para 1 tubo sem anticoagulante.

Por favor enviar o tubo identificado, juntamente com este impresso, para:

Laboratório de Citometria
Serviço de Hematologia Clínica
Hospital de Santo António

Ao cuidado de:

Téc. Lurdes Oliveira / Prof. Dr. Margarida Lima

GRATA PELA COLABORAÇÃO:

Cátia Iracema Morais – MIM - ICBAS-UP

Orientadora: Prof. Dr. Paula Ferreira

Co-Orientadora: Dr.ª Filomena Taborda

Responsável da DIIC:

Prof. Dr. Margarida Lima